

**Penicillin G- und Tetracyclinrückstände
in Gemelkfraktionen nach
intrazisternaler Applikation beim Rind**

Elmar Kaup

1975



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41551905_0101

Aus dem Institut für Hygiene und Technologie
der Lebensmittel tierischen Ursprungs
des Fachbereichs Tiermedizin der Universität München

Vorstände: Prof. Dr. Dr. h.c. L. Kotter und
Prof. Dr. G. Terplan

Arbeit unter Leitung von Priv.-Doz. Dr. W. Gedek

Penicillin G- und Tetracyclintrückstände in Gemelk-
fraktionen nach intrazisternaler Applikation beim Rind

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
des Fachbereichs Tiermedizin
der Ludwig-Maximilians-Universität München

von
Elmar Kaup
Höxter

München 1975

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs Tiermedizin der Universität München

Dekan:	Prof. Dr. B. Vollmerhaus
Referent:	Priv.-Doz. Dr. W. Gedek
Korreferent:	Prof. Dr. K. Walser
Tag der Promotion:	21. Februar 1975



INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
I. EINLEITUNG	
II. SCHRIFTTUM	2
A. Zur Pharmakokinetik intrazisternal verab- reicher Penicilline und Tetracycline	2
1. Verteilung im Euter	2
2. Resorption	3
3. Übergang des Wirkstoffs in die Milch unbe- handelter Euterviertel	4
4. Einflüsse auf die Dauer der Ausscheidung mit der Milch	5
B. Penicillin- und Tetracyclinkonzentrationen in Gemelkfraktionen	8
III. EIGENE UNTERSUCHUNGEN	10
A. Material	10
1. Versuchskühe	10
2. Testpräparate	11
B. Methodik	15
1. Untersuchungen im Stall	15
a) Kontrolluntersuchungen	15
b) Intrazisternale Verabreichung und Probenentnahme	15
c) Melken mit der Viertelmelkmaschine	16
2. Untersuchungen im Labor	17
a) Nachweis von Penicillinen in der Milch	17
b) Nachweis von Tetracyclinen in der Milch	20
c) Nachweis von Oxacillin in der Milch	21

	Seite
d) Standardabweichung und Signifikanz	22
α) Penicillin G-haltige Milchproben	22
β) Tetracyclin-haltige Milchproben	23
γ) Oxacillin-haltige Milchproben	23
C. Versuche und Versuchsergebnisse	25
1. Ausscheidungszeiten handelsüblicher Penicillin G- und Tetracyclinpräparate unter Berücksichtigung von Dosis, Arzneiform, Vehikelart und Vehikelmenge	25
a) Penicillin G-haltige Präparate	25
b) Tetracyclin-haltige Präparate	28
2. Schwankungen der Ausscheidungszeit von Penicillin G und Tetracyclin nach Verabreichung der Wirkstoffe an ein weitgehend gleiches Kollektiv von Versuchskühen	29
3. Wirkstoffkonzentrationen in Gemelkfraktionen nach Verabreichung von Penicillin G- und Tetracyclinpräparaten	32
a) Penicillin G-haltige Präparate	32
b) Tetracyclin-haltige Präparate	36
4. Wirkstoffkonzentrationen in Gemelkfraktionen nach Applikation von Penicillinen in jeweils ein einzelnes Euterviertel von Versuchskühen	40
IV. DISKUSSION	61
V. ZUSAMMENFASSUNG	66
VI. LITERATURVERZEICHNIS	

I. EINLEITUNG

Das Gesetz zur Änderung des Arzneimittelgesetzes vom 5. Juni 1974 schreibt vor, bei Arzneimitteln, die zur Anwendung bei Tieren bestimmt sind, die der Gewinnung von Lebensmitteln dienen, entsprechende Wartezeiten anzugeben. Über das Verfahren der Festlegung von Wartezeiten bei Arzneimitteln, die in die Milch übergehen, liegen keine verbindlichen Richtlinien vor. In diesem Zusammenhang sind eine Reihe von Fragen über die experimentellen Voraussetzungen zur Festlegung von Wartezeiten hochaktuell.

Es wurde mir die Aufgabe gestellt, die Schwankungen der Ausscheidungszeiten von Penicillin G und Tetracyclin nach intrazisternaler Applikation verschiedener entsprechender Mastitispräparate an ein in verschiedenen Kriterien gleiches Kollektiv von Versuchskühen zu ermitteln. Ferner sollte geprüft werden, welche Antibiotikakonzentrationen in den einzelnen Gemelkfraktionen im Vergleich zum Gesamtgemelk der Einzelkuh vorliegen. Es war weiterhin zu prüfen, in welchem Umfange nach intrazisternaler Verabreichung moderner Mastitispräparate Antibiotika vom behandelten Euterviertel in die unbehandelten Viertel übergehen.

II. SCHRIFTTUM

A. Zur Pharmakokinetik intrazisternal verabreichter Penicilline und Tetracycline

1. Verteilung im Euter

Nach intrazisternaler Verabreichung verteilen sich Antibiotika - je nach Vehikelart - in der Milchdrüse unterschiedlich. Beim Vergleich von wässrigen und salbenförmigen Vehikeln fand SCHIPPER (1955) eine gleichmäßige Verteilung von Antibiotika in der Milchdrüse, wenn wässrige Trägersubstanzen verwendet wurden. Salbenförmige Vehikel blieben zum Teil in größeren Mengen schon an den Wandungen des Strichkanals haften. Durch Hochmassieren des Präparates unmittelbar nach der intrazisternalen Verabreichung konnte keine günstigere Verteilung der Antibiotika im salbenförmigen Vehikel erreicht werden. EDWARDS (1964) stellte fest, daß sich Penicillin G in einem wässrigen Vehikel genauso gut im Euter verteilte wie in einem öligen. ULLBERG et al. (1958) wiesen mit radioaktiv markiertem Penicillin nach, daß ölige Medien aufgrund des niedrigen spezifischen Gewichts den Transport von Antibiotika in die Alveolen der proximalen Drüsenabschnitte erleichtern. Bei gleich guter Verteilung von Penicillin in einem wässrigen und einem öligen Träger fand sich die ölige Suspension mehr in den Milchgängen, die wässrige mehr in den Alveolen angereichert. Nach DIERNHOFER (1956) breitet sich Penicillin in wässrigen Lösungsmitteln wie ein Gas im leeren Raum aus und vermag so in die feinsten Verzweigungen der Milchräume aufzusteigen.

Die Anteile der infundierten Antibiotika, die nicht vom Eutergewebe resorbiert werden, werden mit der Milch wieder ausgeschieden. ALBRIGHT et al. (1961) berichteten über die Ergebnisse von HOVMAND et al., die etwa 12 Stun-

den nach intramammärer Infusion von 100.000 IE Penicillin bei 175 Kühen in zwei verschiedenen Herden eine Ausscheidung von 37, % bzw. 21,4 % des Antibiotikums mit der Milch ermittelten. HARGROVE et al. (1950) fanden, daß 26 bis 49 % intrazisternal verabreichter Penicilline mit der Milch wieder ausgeschieden werden.

2. Resorption

Über den Verbleib der durch das Eutergewebe resorbierten Antibiotikamengen berichteten u.a. DIERNHOFER (1956), BLOBEL (1960), ALBRIGHT et al. (1961), EDWARDS (1964) und ROLLINS et al. (1970).

Die resorbierten Antibiotikaanteile sind im Blut relativ kurze Zeit nachweisbar und werden zum größten Teil über Harn, Galle und Fäzes ausgeschieden. Ein kleiner Anteil gelangt auch in die Milch der unbehandelten Euterviertel und wird dort ausgeschieden.

ROLLINS et al. (1970) stellten 2 bis 4 Stunden nach intramammärer Behandlung die höchsten Konzentrationen von Penicillin und Dihydrostreptomycin im Blutserum fest. Die Höhe der Blutserum-Spiegel stand dabei in direkter Beziehung zur Anzahl der behandelten Viertel. Die höchsten Werte im Harn wurden etwa nach 8 Stunden ermittelt. Im Ausnahmefall konnten Spuren von Penicillin und Dihydrostreptomycin noch nach 14 bzw. 15 Tagen festgestellt werden.

ROLLINS et al. untersuchten auch Leber und Nierengewebe und fanden, daß die Gewebespiegel höher lagen als die entsprechenden Blutserum-Werte. Die Höhe der Gewebespiegel stand wiederum in direkter Beziehung zur Anzahl der behandelten Euterviertel. Im Muskel- und Fettgewebe wurden keine Antibiotika-Rückstände gefunden.

Über das Vorkommen intrazisternal verabreichter Tetracycline in Milch, Blutserum und Harn berichteten u.a.

KANEGIS et al. (1953), SCHIPPER (1952 und 1953), sowie BLOBEL (1960). KANEGIS et al., die zur Ermittlung therapeutischer Euterspiegel pro Viertel 400 mg Chlortetracyclin in salbenförmiger Zubereitung infundierten, stellten fest, daß der Chlortetracyclingehalt in der Milch nach 7 Melkzeiten post applicationem auf etwa 0,5 mcg/ml gesunken war. Bei vergleichenden Blutuntersuchungen fanden sie, daß 1 Stunde post applicationem die höchsten Chlortetracyclin-Konzentrationen im Blutserum (zwischen 0,1 - 0,8 mcg/ml) nachgewiesen werden konnten. SCHIPPER (1952) verabreichte 200 mg bzw. 400 mg Chlortetracyclin pro Euterviertel in Salbenform und fand ähnliche Milchspiegel wie KANEGIS et al., SCHIPPER (1952) stellte fest, daß nach Verabreichung von 200 mg bzw. 400 mg Chlortetracyclin die Blutserum- und Harnspiegel 1 mcg/ml nicht überschritten. Er folgerte, daß das Euterparenchym nur in begrenztem Umfang permeabel sei. Nach intrazisternaler Applikation von Oxytetracyclin in wässrigem Vehikel bzw. in Salbenform ermittelte SCHIPPER (1953) für die wässrige Lösung niedrigere Milchspiegel als für die Salbenform. Er vermutete, daß in destilliertem Wasser gelöstes Oxytetracyclin in größeren Mengen ins Euterparenchym einzudringen vermag, als wenn eine Salbe als Vehikel verwendet würde.

3. Übergang des Wirkstoffs in die Milch unbehandelter Euterviertel

BLOBEL (1960) hat umfangreiche Untersuchungen über den Übergang von Penicillin G von behandelten Eutervierteln in die Milch unbehandelter Euterviertel durchgeführt. Die in der Mehrzahl der unbehandelten Euterviertel festgestellten Penicillin-Milchspiegel schwankten nach intrazisternaler Verabreichung von 100.000 bzw. 300 000 E Penicillin G von 0,005 bis 0,06 E/ml. Innerhalb von 36 Stunden post

applicationem war das Penicillin aus der Milch der unbehandelten Euterviertel eliminiert. Der Übergang von Penicillin G in die unbehandelten Euterviertel erfolgte hauptsächlich auf dem Blutwege, während die direkte Diffusion von Penicillin G zwischen den einzelnen Vierteln eine unbedeutende Rolle spielte. Die Penicillinkonzentrationen in der Milch der unbehandelten Euterviertel waren proportional der insgesamt verabreichten Penicillindosis. Auch SIDDIQUE et al. (1965) konnten einen Übergang von Penicillin G von behandelten Eutervierteln in unbehandelte feststellen. Nach dreimaliger intrazisternaler Infusion von 250.000 IE Prokain-Penicillin (wässrige Lösung) in ein Euterviertel mit Mastitis konnte 12 Stunden post applicationem sogar ein Maximal-Milchspiegel von 1,1 IE/ml beobachtet werden. Die Persistenz der Penicillin-Spiegel in der Milch der unbehandelten Viertel übertraf ebenfalls nicht die Zeit von 36 Stunden post applicationem. Zu ähnlichen Ergebnissen kamen auch BROWN et al. (1961), EDWARDS (1964), JACOBS und PENNINGS (1969) sowie ROLLINS et al. (1970). HANSEN et al. (1950), KÄSTLI (1961) und MURNANE (1962) konnten dagegen keine Penicillin-Rückstände in der Milch der unbehandelten Euterviertel nachweisen, wenn 100.000 IE Penicillin angewendet wurden.

4. Einflüsse auf die Dauer der Ausscheidung mit der Milch

Eine verbindliche Definition der Ausscheidungszeit von Antibiotika mit der Milch liegt im internationalen Schrifttum nicht vor. Unter der Ausscheidungszeit wird wohl allgemein die Zeit post applicationem verstanden, innerhalb derer die Milch des behandelten Tieres noch oberhalb der Erfassungsgrenze liegende Wirkstoffkonzentrationen enthält. Verlauf und Persistenz der Antibiotika-Milchspiegel sind von einer Reihe verschiedener Faktoren abhängig (OVERBY, 1954; REUSSE, 1961; ALBRIGHT et al., 1961; RASMUSSEN, 1966; SCHIPPER, 1967; TERPLAN und ZAADHOFF, 1967; GEDEK, 1973; JENNY, 1973).

In diesem Zusammenhang spielt natürlich die Applikationsart eine große Rolle, da intrazisternal verabreichte Antibiotika höhere Milchspiegel und längere Ausscheidungszeiten bedingen als die entsprechenden, auf anderem Wege applizierten Wirkstoffe in der gleichen Dosis.

Der Typ der Trägersubstanz beeinflusst in entscheidendem Maße die Ausscheidungszeit von intrazisternal verabreichten Antibiotika. Mastitispräparate sind meist wässrige Lösungen oder Suspensionen, ölige Suspensionen oder salbenförmige Zubereitungen. Als Vehikel fungieren Wasser, Vaseline, Paraffine, vegetabilische Öle und Wachs. Als Hilfsstoffe werden Aluminiummonostearat, Netzmittel und andere Substanzen eingesetzt. Penicilline in wässrigem Vehikel führen schnell zu hohen Konzentrationen und zu vergleichsweise kurzen Ausscheidungszeiten gegenüber Pen. in öliger Trägersubstanz. Ein Zusatz von Aluminiummonostearat zum öligen Träger verzögert die Ausscheidung von Penicillin. Ölige Suspensionen von Penicillin G können sehr lange, aber auch sehr kurze Ausscheidungszeiten bedingen, selbst wenn es sich um schwerlösliche Penicillinsalze, etwa Benzathin- oder Benethamin-Penicillin G, handelt, da das verwendete Öl und die Hilfsstoffe für die Dauer der Ausscheidung bestimmend sind. Da der Hersteller keine Angaben darüber macht, welches Öl und welche Hilfsstoffe verwendet wurden, kann auch nicht abgeschätzt werden, ob es sich bei einem Präparat um ein "Langzeitpräparat" oder um ein "Kurzzeitpräparat" handelt.

Physikalisch-chemische Eigenschaften des Wirkstoffs können ebenfalls die Dauer der Ausscheidung beeinflussen. So werden leicht wasserlösliche Penicilline, z.B. Penicillin G-Kalium schneller ausgeschieden als schwerlösliche Penicillin G-Salze, wie Benzathin-Penicillin G. Antibiotika mit basischem Charakter und hohen pKa-Werten wie

Erythromycin und Spiramycin passieren die biologische Membran Milchdrüsenepithel gut. Nach parenteraler Verabreichung kommt es kurzfristig zu relativ hohen Milchspiegeln. Die Passage von Antibiotika durch das Milchdrüsenepithel wird begünstigt, wenn die Lipidlöslichkeit der undissoziierten Fraktion hoch ist. Der Übergang von Antibiotika, die Ionen bilden können, erfolgt durch Diffusion der undissoziierten Fraktion.

Die Dauer der Ausscheidung von Antibiotika wird weiter beeinflusst durch den Grad der pathologisch-anatomischen Veränderungen des Eutergewebes. Normale und subklinisch erkrankte Euterviertel zeigen keine für die Praxis bedeutenden Unterschiede in der Ausscheidungszeit nach intrazisternaler Verabreichung von Antibiotika, während klinisch erkrankte Viertel eine Verzögerung der Ausscheidung bedingen.

Die Milchleistung beeinflusst die Ausscheidungszeit insofern, als Kühe mit niedriger Milchleistung die Antibiotika länger ausscheiden als solche mit hoher Milchleistung.

Kühe in spätem Laktationsstadium sollen intrazisternal verabreichte Antibiotika in der Milch länger ausscheiden als solche in frühem Laktationsstadium.

Naturgemäß spielt natürlich auch die applizierte Dosis eine Rolle. Aus stärkeren Dosiserhöhungen resultieren höhere Milchspiegel und längere Ausscheidungszeiten.

B. Penicillin- und Tetracyclinkonzentrationen in Gemelkfraktionen

JACOBS et al. (1971) konnten nach intrazisternaler Verabreichung von 300.000 IE Prokain-Penicillin G in Salbenform feststellen, daß in jeweils zwei verschiedenen Gemelkfraktionen, die zur gleichen Melkzeit gewonnen wurden, unterschiedliche Wirkstoffkonzentrationen vorhanden waren. Es wurden bei 8 Kühen je zwei Viertel behandelt. In 89 % der Fälle enthielten die Vorgemelke der behandelten Viertel höhere Wirkstoffkonzentrationen als die Proben der vollständigen Viertelgemelke, die mit einer Viertelmelkmaschine gewonnen wurden. Diese Beobachtungen zeigen eine gewisse Übereinstimmung mit denen von EDWARDS (1964), der nach intrazisternaler Applikation von Penicillin in wässerigen und öligen Trägern im distalen Teil des Euters höhere Konzentrationen des Antibiotikums nachweisen konnte als im proximalen Teil.

Bei unbehandelten Eutervierteln enthielten in der Mehrzahl der Fälle die Proben von den vollständigen Viertelgemelken signifikant höhere Antibiotikakonzentrationen als die von den zugehörigen Vorgemelken.

JACOBS und PENNINGS (1969 a) prüften Gemelkfraktionen, die zwischen den normalen Melkzeiten gewonnen worden waren, auf ihren Penicillingehalt.

Die Proben, die zur normalen Melkzeit gewonnen wurden, entstammten vollständigen Viertelgemelken. Die 3 bzw. 6 Stunden nach dem Morgenmelken gewonnenen Proben bestanden aus einigen Milchstrahlen aus den vier Vierteln. Die 3 Stunden nach der normalen Melkzeit ermolkenen Fraktionen enthielten in 80% der Fälle höhere Penicillin-Konzentrationen als diejenigen, die zur normalen Melkzeit gewonnen worden waren.

Die nach 6 Stunden geprüften Proben hatten demgegenüber in 90 % der Fälle niedrigere Penicillin-Konzentrationen und in 97,5 % der Fälle niedrigere Penicillin-Spiegel als die nach 3 Stunden genommenen Proben.

BLOBEL und BURCH (1960) fanden nach intrazisternaler Verabreichung von Oxytetracyclin im Vorgemelk höhere Wirkstoff-Konzentrationen als im entsprechenden Gesamtgemelk.

PACKER (1948) konnte im Vorgemelk höhere Penicillin-Konzentrationen ermitteln als im Endgemelk. Zu gleichen Ergebnissen kamen auch TRUSSELL und STEVENSON (1949a und 1949b) und SCHIPPER und PETERSEN (1953).

III. EIGENE UNTERSUCHUNGEN

A. Material

1. Versuchskühe

Für die Versuche standen sechs dreijährige Fleckvieh-Kühe zur Verfügung. Über deren durchschnittliche Milchleistung, Milchfettgehalt und Laktationsstadium zu Beginn der Untersuchungen informiert Tabelle 1.

Tabelle 1
Milchleistung, Fettgehalt und Laktationsstadium
der Versuchskühe

Kuh-Nr.	Milchleistung (kg pro Tag)	Fettgehalt (in %)	Laktations- monat
840	12,6	3,8	4.
841	11,4	4,2	4.
842	11,8	4,2	4.
847	10,8	4,0	4.
848	12,2	3,8	4.
849	11,2	3,8	4.

Mit fortschreitender Laktation fiel die Leistung der Versuchskühe gleichmäßig bis auf 5-6 kg/Tag am Ende der Experimente ab.

Die klinische Untersuchung der Euter der Versuchskühe ergab, mit Ausnahme der Kuh Nr. 849, einen normalen Befund. Das linke Vorderviertel der Kuh 849 war im Vergleich zum rechten Vorderviertel atrophisch und wies diffuse, nicht schmerzhaftes Verhärtungen des Drüsengewebes auf. Das Eutersekret aus dem linken Vorderviertel war vor Beginn der einzelnen Versuche am Tier stets grobsinnlich unverän-

dert. Der Schalm-Test ergab jedoch stets eine positive Reaktion. Aus dem linken Vorderviertel wurde signifikant weniger Milch ermolken als aus dem rechten Vorderviertel.

Die mikrobiologisch-kulturelle Untersuchung der nach der Methode von DIERNHOFER aseptisch entnommenen Viertelgemelkproben ergab einen negativen Befund.

Die Fütterungs- und Haltungsbedingungen der sechs Versuchskühe müssen als weitgehend gleich angesehen werden. Die Tiere standen im gleichen Stall, erhielten das gleiche Futter und wurden stets vom gleichen Personal betreut.

2. Testpräparate

Es wurden im Handel erhältliche, für die intramammäre Behandlung empfohlene Penicillin G- bzw. Tetracyclin-haltige Präparate geprüft. Detaillierte Angaben über die Präparate enthalten die Tabellen 2 und 3.

Tabelle 2

Penicillin G-haltige Präparate

Präparat	Arzneiform	Vehikel	Aluminium-monostearat	Antibakteriell wirksame Substanz	Dosis/ Euterviertel
A	Suspension	Wasser	-	Prokain-Penicillin G Dihydrostreptomycin-sulfat	1.600.000 IE 2.512 mg
B	Suspension	Wasser	-	Prokain-Penicillin G Dihydrostreptomycin-sulfat	1.000.000 IE 650 mg
C	Salbe	Wollwachs Vaseline Paraffinöle	+	Prokain-Penicillin G Dihydrostreptomycin-sulfat	300.000 IE 390 mg
D	Salbe	Vaseline Paraffinöle	+	Prokain-Penicillin G Dihydrostreptomycin-sulfat	200.000 IE 130 mg
E	Suspension	hydrophille Gele	-	Prokain-Penicillin G Dihydrostreptomycin-sulfat Diaphenylsulfon Kanamycinsulfat	200.000 IE 282 mg 550 mg 50,7 mg

Tabelle 2 (Fortsetzung)

F	Salbe	Wollwachs- Paraffinöl	+	Prokain-Penicillin G Dihydrostreptomycin- sulfat	200.000 IE 130 mg
G	Suspension	Vegetabil.öl	+	Benethamin-Penicillin G Dihydrostreptomycin- sulfat Chloramphenicol Diaphenylsulfon	375.000 IE 249 mg 375 mg 375 mg
H	Suspension	Wollwachs- alkoholgemisch Paraffinöl	+	Benethamin-Penicillin G Dihydrostreptomycin- sulfat Sulfadimidin	150.000 IE 187 mg 500 mg
I	Suspension	Wollwachs- alkoholgemisch Vegetabil. öl	+	Prokain-Penicillin G Benethamin-Penicillin G Dihydrostreptomycin- sulfat	100.000 IE 100.000 IE 130 mg

Tabelle 3

Tetracyclin-haltige Präparate

Präparat	Arzneiform	Vehikel	Aluminium-monostearat	Antibakteriell wirksame Substanz	Dosis/Euterviertel
K ₁	Suspension	Glycole Wasser	-	Tetracyclin-HCl	400 mg
K ₂	Suspension	Glycole Wasser	-	Tetracyclin-HCl	250 mg
L	Suspension	Wollwachs-alkoholgemisch Vegetabil.öl	-	Tetracyclin-HCl Neomycinsulfat	300 mg 152 mg
M	Suspension	Wollwachs-alkoholgemisch Vegetabil.öl	-	Tetracyclin-HCl Neomycinsulfat	300 mg 304 mg
N	Suspension	Wollwachs-alkoholgemisch Vegetabil.öl	-	Tetracyclin-HCl Neomycinsulfat Dihydrostreptomycinsulfat Sulfamethoxypyrazin	250 mg 190 mg 162 mg 250 mg

B. Methodik

1. Untersuchungen im Stall

a) Kontrolluntersuchungen

Vor Beginn jedes Versuches wurden die Euter der Versuchskühe klinisch und die aseptisch entnommenen Viertelgemelkproben mikrobiologisch-kulturell untersucht. Außerdem erfolgte eine Prüfung der Milch auf Hemmstoffe. Die mikrobiologisch-kulturellen und hemmstoffbiologischen Untersuchungen verliefen stets negativ. Mit Ausnahme des linken Vorderviertels der Kuh 849 lagen keine klinischen Euteränderungen vor. Im Verlaufe der Untersuchungen trat keine Änderung des ursprünglich erhobenen Befundes ein. Der im Stall durchgeführte Schalm-Test ergab mit Ausnahme der Milch des linken Vorderviertels der Kuh 849 vor Versuchsbeginn lediglich negative oder fragliche Reaktionen.

b) Intrazisternale Verabreichung und Probenentnahme

Die intrazisternale Applikation der verschiedenen Präparate erfolgte stets unmittelbar nach dem Melken. Nach Desinfektion der Zitzenkuppe wurde das entsprechende Präparat instilliert, danach durch Druck mit zwei Fingern auf die Zitzenkuppe der Strichkanal fest umschlossen und dann das instillierte Präparat gründlich hochmassiert. Zu den entsprechenden Melkzeiten wurden aus jedem Euterviertel Anfangsgemelkproben (ohne Wegmelken der ersten Strahlen) entnommen. Unmittelbar danach wurde die Kuh mit einer Viertelgemelkmaschine gemolken. Nach Abnehmen des

Melkzeugs erfolgte dann die Entnahme der Endgemelkproben. Nach dem Abmessen der Milchmenge jedes Euterviertels wurden die Viertelgemelke zusammengeschüttet. Aus diesem Gesamtgemelk wurde dann noch eine Probe nach gutem Durchmischen genommen. Von jeder Kuh standen damit 13 Milchproben zur Verfügung.

Nach der Probeentnahme wurden die Milchproben in eine in der Milchkammer aufgestellte Tiefkühltruhe gestellt und bei Temperaturen von mindestens -20°C aufbewahrt. Die Untersuchung der Proben erfolgte innerhalb von drei Tagen.

c) Melken mit der Viertelmelkmaschine

Zur Gewinnung der Viertelgemelke wurde eine Viertelmelkmaschine der Fa. MIELE verwendet. Die ordnungsgemäße Funktion der Viertelmelkmaschine wurde ständig überprüft. Hierzu wurden die Zitzenbecher bei angestelltem Vakuum in ein Wasserbad getaucht. Ein gleich starker Wasserfluß in die einzelnen Zylinder zeigte eine gleichmäßige Saugkraft an. Die Vakuumhöhe in den Zitzenbecherinnenräumen, gemessen mit einem geeichten Vakuummeter, betrug $0,45 \text{ kp/cm}^2$. Der Pulsator arbeitete mit einer Frequenz von 50 Doppeltakten/min..

Um zu vermeiden, daß antibiotikahaltige Milch nach dem Melken der einzelnen Kühe in der Viertelmelkmaschine verbleibt und somit die Ergebnisse verfälscht, wurden die milchführenden Teile der Melkmaschine nach dem Melken jeder Kuh mit lauwarmem Wasser mehrmals durchgespült. Kontrollproben wiesen keine Hemmstoffe im Agarlochtest mit dem entsprechenden Testkeim auf.

Stechheber, Schöpflöffel und die verwendeten Eimer wurden nach jeder Probenentnahme mit Wasser abgespült. Nach jeder Melkzeit erfolgte eine Reinigung der milchführenden Teile der Viertelmelkmaschine mit Anti-Germ/M-Pulver. Einmal wöchentlich erfolgte eine saure Reinigung mit Anti-Germ/Contralith-flüssig.

2. Untersuchungen im Labor

a) Nachweis von Penicillinen in der Milch

Die quantitative Bestimmung des Penicillins erfolgte mit dem Agardiffusionsverfahren in Form des Lochtests nach einer von GEDEK (1972) im hiesigen Institut angewendeten Methodik. Als Testkeim fand *B. stearrowthermophilus* var. *calidolactis* C 953 Verwendung.

Testkeime

Zur Anreicherung der Testkeime wurde Material von Einzelkolonien einer frischen, auf Brain Heart Infusion Agar (DIFCO) gezüchteten Kultur auf Schrägagar (Brain Heart Infusion Agar, DIFCO) verimpft und 6-8 Stunden bei 55-60°C in gesättigter Wasserdampfatosphäre bebrütet. Der Schrägagar wurde pro Röhrchen mit 0,2 ml Nährbouillon abgeschwemmt, die Keimsuspension jeweils auf eine große Brain Heart-Infusion Agar-Platte (18,5 cm innerer Durchmesser) übertragen und mit dem Drigalsky-Spatel ausgespaltet. Die Bebrütung der schräggestellten Platten erfolgte bei 55-60°C in gesättigter Wasserdampfatosphäre für die Dauer von mindestens 16 Stunden. Anschließend wurde der Bakterienrasen mit 20 ml Nährbouillon abgeschwemmt, die Keimsuspension in 200 ccm-Flaschen mit Glasperlen abgefüllt und intensiv ge-

schüttelt. Die Keimzahl pro ml Nährbouillon wurde nach dem Koch'schen Plattenverfahren ermittelt. Im allgemeinen konnten junge, teilweise versportete Kulturen in Konzentrationen von mindestens 1×10^9 koloniebildenden Einheiten pro ml Abschwemmungsbouillon gewonnen werden.

Als Testagar wurde Antibiotic Medium I (DIFCO), pH 6,5, verwendet, dem Keime in einer Konzentration entsprechend 5×10^5 bis 5×10^6 koloniebildender Einheiten von *B. stearothermophilus* var. *calidolactis* C 953 pro ml zugegeben wurden. Der mit Testkeimen versetzte Agar wurde nunmehr auf großen Glasplatten (22 x 22 cm) in quadratischen Plexiglasrahmen (19 x 19 cm) ausgegossen. Als Auflage diente eine verstellbare Platte, mit der unter Wasserwaagenkontrolle jede Glasplatte plan aufgelegt werden konnte. Die Schichtdicke des Agars betrug 2,2 mm, der Lochdurchmesser 13 mm. Pro Platte wurden 25 Löcher ausgestanzt und jeweils 0,2 ml Milch einpipettiert. Bei jeder Platte wurden als Bezugssystem zwei Penicillin G-Kalium-Standardreihen (718/70 BAYER) mitgeführt. Zu diesem Zwecke wurde eine Lösung von m/15 Phosphatpuffer, pH 6,5, hergestellt, die 10 IE Penicillin G-Kalium pro ml enthielt. Diese Lösung wurde mit steriler, hemmstofffreier Magermilch im Verhältnis 1:20 verdünnt. Von dieser 0,5 IE Penicillin G-Kalium pro ml enthaltenden Magermilch wurde eine geometrische Verdünnungsreihe der Stufen 1/1, 1/2, 1/4, 1/8, 1/16, 1/32, 1/64 angelegt. Als Verdünnungsmittel fand sterile, hemmstofffreie Magermilch Verwendung. Zur Kontrolle der einheitlichen Schichtdicke wurden vier der sechs Verdünnungsstufen einer Standardreihe auf einer Platte doppelt in entsprechende Agarlöcher pipettiert, um anhand

der Größe der Hemmhöfe von Milchproben mit gleicher Penicillin-Konzentration an verschiedenen Stellen der Platte die Agarschichtdicke kontrollieren zu können.

Die Abdeckung der Plexiglasrahmen für die Bebrütung erfolgte mit selbstklebender Folie (Sprint Marking Film, transparent, Art.Nr. 13438 der 3-M-Company, Düsseldorf). Die Bebrütung der Platten erfolgte bei $66 - 68^{\circ}$ für ca. 4 Stunden.

Um durch Penicilline bedingte Hemmhöfe gegenüber andersbedingten Hemmhöfen, die im Bereich der unteren Nachweisgrenze für Penicilline eventuell auftreten können, abzugrenzen, wurde Penicillinase (DIFCO) verwendet. Der Zusatz zu den Milchproben erfolgte in der Weise, daß in das ausgestanzte Loch zuerst 0,05 ml einer Lösung, die 2.000 LEVY-Einheiten pro ml enthielt, pipettiert und dann jeweils 0,2 ml Milch zugegeben wurde.

Zur Auswertung gelangte jede Platte mit klar begrenzten Hemmhöfen. Die untere Nachweisgrenze liegt unter diesen Bedingungen in Abhängigkeit von der Einsaatgröße bei 0,008 bzw. 0,004 IE Penicillin G-Kalium. Zwischen Hemmhofdurchmesser und Penicillin G-Konzentration besteht eine logarithmische Beziehung. Bei halblogarithmischer Darstellung wird die Standardkurve zur Geraden (Abb. 1). Die Hemmhofgrößen der zu testenden Milchproben wurden in die Standardgerade interpoliert, um die Penicillin-Konzentrationen bestimmen zu können. Die Darstellung der Regressionsgeraden aus den sieben Meßpunkten der Standardreihe und die Zuordnung der Hemmhofgrößen der zu testenden Milchproben zu den entsprechenden Verdünnungsstufen erfolgte mit einem Tischcomputer unter

Verwendung eines entsprechenden Programmes. Die Umrechnung von der Verdünnungsstufe zur Penicillin-Konzentration wurde anhand einer Tabelle vorgenommen.

b) Nachweis von Tetracyclinen in der Milch

Die quantitative Bestimmung des Tetracyclins erfolgte in ähnlicher Weise mit dem Agardiffusionsverfahren in Form des Lochtests wie die Bestimmung des Penicillins. Als Testkeim wurde *B. cereus* var. *mycoides* (ATCC 11778) verwendet und als Testagar Antibiotic Medium 2 (DIFCO), pH 5,2. Es wurde eine hochkonzentrierte Sporensuspension des Testkeims hergestellt. Die Einsaatdichte der Testkeime im Agar betrug 5×10^4 / ml.

Die Herstellung der gebrauchsfertigen Agarplatten für den Nachweis von Tetracyclin wurde in gleicher Weise durchgeführt wie für Penicillin. Die Abdeckung der Plexiglasrahmen erfolgte in diesem Falle mit Glasplatten und untergelegtem Filterpapier. Der Testagar wurde 16 - 18 Stunden bei 30° C bebrütet. Als Bezugssystem für die zu prüfenden Milchproben wurden in diesem Falle pro Platte zwei Tetracyclin-Standardreihen (Achromycin 4761-03, LEDERLE) mitgeführt. Die Standardreihe wurde nach Empfehlungen von KRAMER et al. (1968) erstellt. Laut Anweisung wurde zur Herstellung der Stammlösung von 2.400 mcg Tetracyclin/ml 0,1 N Salzsäure verwendet. Die Konzentrationsstufen 2,4 - 1,2 - 0,6 - 0,3 - 0,15 und 0,075 mcg/ml wurden mit hemmstofffreier Rohmilch eingestellt. Jede der Verdünnungsstufen wurde 2 Teile 0,1 M Phosphatpuffer (pH 4,5) zugesetzt, um Endkonzentrationen von 0,8 - 0,4 - 0,2 - 0,1 - 0,05 und 0,025 mcg/ml zu erreichen. Die zu prüfenden Milchproben wurden ebenfalls im Verhältnis 1 : 3 mit

0,1 M Phosphatpuffer pH 4,5 verdünnt.

Bei der Auswertung wurden nur Platten mit klar begrenzten Hemmhöfen berücksichtigt. Unter den gegebenen Voraussetzungen lag die sichere untere Nachweisgrenze bei 0,3 mcg Tetracyclin pro ml Milch. Die Standardkurve ergab in halblogarithmischer Darstellung eine Gerade (Abb. 2). Die Hemmhofgrößen der zu testenden Milchproben wurden in die Standardgerade interpoliert, um die Tetracyclin-Konzentrationen bestimmen zu können. Die Darstellung der Regressionsgeraden aus den Meßpunkten der Standardreihe und die Zuordnung der Hemmhofgrößen der zu testenden Milchproben zu den entsprechenden Verdünnungsstufen erfolgte mit einem Tischcomputer unter Verwendung eines entsprechenden Programms. Die Umrechnung von der Verdünnungsstufe zur Tetracyclin-Konzentration wurde anhand einer Tabelle vorgenommen.

c) Nachweis von Oxacillin in der Milch

Die quantitative Bestimmung des Oxacillins wurde in der gleichen Weise mit dem Agardiffusionsverfahren in Form des Lochtests durchgeführt wie die Bestimmung des Penicillins. Als Testkeim fand wiederum *B. stearothermophilus* var. *calidolactis* C 953 Verwendung und als Testagar Antibiotic Medium 1 (DIFCO), pH 6,5. Sowohl das Verfahren zur Anreicherung der Testkeime als auch die Einsaatdichte mit 5×10^5 bis 5×10^6 koloniebildender Einheiten von *B. stearothermophilus* var. *calidolactis* (C 953) pro ml Agar wurden beibehalten. Die Herstellung der gebrauchsfertigen Agarplatten für den Nachweis von Oxacillin wurde in derselben Weise durchgeführt wie für Penicillin. Bebrütungstemperatur und -zeit lagen bei 66 - 68°C bzw. ca. 4 Stunden. Unter den gegebenen

Versuchsbedingungen lag die untere Nachweisgrenze für Oxacillin bei 0,016 mcg/ml. Als Standard wurde Stapenor Natrium (BAYER, 42/71) verwendet.

Die Oxacillin-Stammlösung enthielt 10000mcg Oxacillin/ml m/15 Phosphatpuffer (pH 6,5). Ausgehend von 1 mcg Oxacillin/ml wurde mit hemmstofffreier Magermilch eine geometrische Verdünnungsreihe der Stufen 1/1, 1/2, 1/4, 1/8, 1/16, 1/32, 1/64 angelegt. Die halblogarithmische graphische Darstellung der Standardkurve ist in Abb. 3 wiedergegeben. Die Zuordnung von zu testender Milchprobe zur Standardgeraden wurde mit einem Tischcomputer unter Verwendung eines entsprechenden Programms vorgenommen. Die Umrechnung von der Verdünnungsstufe zur tatsächlichen Oxacillin-Konzentration wurde anhand einer Tabelle durchgeführt.

d) Standardabweichung und Signifikanz

α) Penicillin G-haltige Milchproben

Zur quantitativen Bestimmung von Penicillin G in der Milch erweist sich das Agardiffusionsverfahren in Form des Lochtests mit dem entsprechenden Testkeim als eine geeignete Methode. Bei der Kontrolle auf Zuverlässigkeit des Verfahrens wurde festgestellt, daß die Standardabweichung der Hemmhofdurchmesser pro Platte sehr gering ist, wenn jeweils 25 Milchproben mit gleichem Antibiotikum-Gehalt untersucht wurden. Beispielsweise wurden für sieben Penicillin-Konzentrationsstufen zwischen 0,5 IE und 0,008 IE Standardabweichungen von 0,21 mm bis 0,27 mm errechnet bei Hemmhofgrößen von 23,2 mm bis 39,3 mm.

Zur Errechnung signifikanter Unterschiede innerhalb der Hemmhofdurchmesser wurde die Zahl 25, entsprechend 25 Milchproben pro Platte, zugrundegelegt. Bei einer durchschnittlichen Standardabweichung von 0,24 mm liegen signifikante Unterschiede der Hemmhofgrößen dann vor, wenn die Unterschiede der einzelnen Hemmhofdurchmesser $\geq 0,7$ mm betragen.

β) Tetracyclin-haltige Milchproben

Standardabweichung und Signifikanz innerhalb der Hemmhofdurchmesser wurden für Tetracyclin HCl-haltige Milchproben auf die gleiche Art bestimmt wie für Penicillin G-haltige Milchproben. Die Ermittlung signifikanter Unterschiede innerhalb der Hemmhofgrößen wurde wiederum auf die Zahl 25, entsprechend 25 Milchproben pro Platte, bezogen. Die Standardabweichungen der Hemmhofdurchmesser von vier Tetracyclin-Konzentrationen zwischen 2,4 mcg und 0,3 mcg/ml Milch betrugen 0,16 bis 0,14 mm für Hemmhofgrößen von 31,9 mm bis 21,5 mm. Bei einer durchschnittlichen Standardabweichung von 0,15 mm sind signifikante Unterschiede der Hemmhofgrößen dann gegeben, wenn die Unterschiede $\geq 0,4$ mm betragen.

γ) Oxacillin-haltige Milchproben

Standardabweichung und signifikante Unterschiede innerhalb der Hemmhofdurchmesser von Oxacillin-haltigen Milchproben wurden ebenfalls bestimmt. Für sieben Oxacillin-Konzentrationsstufen zwischen 1 mcg und 0,016 mcg/ml Milch wurde eine durchschnittliche Standardabweichung von 0,24 mm

ermittelt bei Hemmhofgrößen von 33,1 mm bis 18,8 mm. Pro Platte wurden wiederum 25 Milchproben mit gleichem Antibiotikum-Gehalt geprüft. Signifikante Unterschiede der Hemmhofgrößen lagen dann vor, wenn die Unterschiede der einzelnen Hemmhofdurchmesser $\geq 0,7$ mm betrugen.

C. Versuche und Versuchsergebnisse

1. Ausscheidungszeiten handelsüblicher Penicillin G- und Tetracyclinpräparate

a) Penicillin G-haltige Präparate

Zunächst wurde geprüft, in welcher Zeit Penicillin G mit der Milch nach intrazisternaler Applikation verschiedener Penicillin G-haltiger Präparate ausgeschieden wird. Die ermittelten Werte bezogen sich jeweils auf das Gesamtgemelk der einzelnen Versuchskuh. Als Ausscheidungszeit wurde die Anzahl der Gemelke post applicationem festgelegt, die $\geq 0,008$ IE Penicillin G/ml Milch enthielten.

Es kam darauf an, eigentlich nur die letzte Phase der Ausscheidung von Penicillin G zu erfassen, um zu vermeiden, daß andere antibakterielle Substanzen in den Kombinationspräparaten zu Ungenauigkeiten bei der Penicillin G-Spiegelbestimmung führen. Nach der Applikation solcher Präparate können verschiedene Antibiotika in Konzentrationen vorkommen, die dem gegenüber Penicillin hochsensiblen *B. calidolactis* stark hemmen, so daß ein quantitativer Nachweis von Penicillin mit dem angewendeten Verfahren nicht möglich ist. Da es sich bei den Penicillinen in den Kombinationspräparaten um schwerlösliche Penicillin-Salze handelt, die relativ langsam ausgeschieden wurden und gleichzeitig noch sehr geringe Konzentrationen an Penicillin im Vergleich zu anderen Antibiotika mit dem Test erfaßt wurden, ist bei der Überprüfung der letzten Phase der Ausscheidung mit Störungen der Penicillinbestimmung durch andere Antibiotika kaum zu rechnen.

Durch Zusatz von Penicillinase wurde kontrolliert, ob andere Antibiotika die Penicillin G-Spiegelbestimmung stören können. Wenn bei Penicillinase-Zusatz der Hemmhof verschwindet, sind andere Antibiotika nicht mehr oder nur in solchen Konzentrationen vorhanden, die die Penicillin G-Spiegelbestimmung nicht beeinflussen.

Da in den Kombinationspräparaten häufig Dihydrostreptomycinsulfat enthalten ist, wurde außerdem geprüft, ob die verhältnismäßig hohe Streptomycinsulfat-Konzentration von 1 mcg/ml die Penicillin G-Bestimmung beeinflussen kann. Die Hemmhofgrößen von zwei Penicillin G-Kalium-Standardreihen (7 Verdünnungsstufen von 0,5 IE bis 0,004 IE/ml Milch) zeigten keine signifikanten Unterschiede gegenüber den Hemmhofgrößen von zwei entsprechenden Penicillin G-Kalium-Standardreihen, die pro Verdünnungsstufe zusätzlich 1 mcg Streptomycinsulfat/ml Milch enthielten.

Die Abbildungen 4 - 9 zeigen die Ausscheidungszeiten von Penicillin G nach intrazisternaler Verabreichung von Prokain-Penicillin G-haltigen Präparaten in verschiedener Dosierung und mit unterschiedlichen Trägersubstanzen. Die Angaben über die Höhe der Dosierung und die verabreichte Menge beziehen sich auf das einzelne Euterviertel.

Die Abbildungen 10 - 12 zeigen den Penicillin G-Milchspiegelverlauf nach intrazisternaler Applikation von Benethamin-Penicillin G-haltigen Präparaten.

Die Ausscheidungszeiten der intrazisternal verabreichten Prokain-Penicillin G-Präparate reichten

von der 4. bis zur 13. Melkzeit post applicationem. Die Unterschiede in den verabreichten Vehikelmengen bei den geprüften Präparaten waren gering (7-9 ml), so daß die beobachteten Unterschiede in der Ausscheidungszeit nicht darauf zurückgeführt werden können.

Für das Präparat A mit 1,6 Mega IE Prokain-Penicillin G in wäßriger Suspension wurden etwa die gleichen Ausscheidungszeiten (4, 5 und 6 Gemelke) ermittelt wie für eine vergleichsweise geringe Dosis von 200.000 IE Prokain-Penicillin G mit hydrophilen Gelen (Präp. E). Eine vergleichsweise kurze Ausscheidungszeit wies auch das Präparat B auf, eine wäßrige Suspension, die 1 Mega Prokain-Penicillin G enthielt. Die übrigen drei Prokain-Penicillin G-haltigen Präparate bedingten eine vergleichsweise lange Ausscheidungszeit des Wirkstoffs, obwohl sie ausnahmslos eine geringe Dosis (200.000 - 300.000 IE) enthielten. Die Ausscheidungszeit variierte hier von 8 bis 13 Gemelken. Diese drei Präparate enthielten als Trägersubstanzen Paraffinöl, Vaseline bzw. Wollwachs und einen Zusatz von Aluminiummonostearat.

Die drei "Kurzzeit-Präparate" sind Suspensionen, die drei "Langzeit-Präparate" salbenförmige Zubereitungen.

Die längste Ausscheidungszeit innerhalb der Gruppe der Penicillin G-Präparate wurde bei einem Benethamin-Penicillin G-Präparat festgestellt, das eine Dosis von nur 375000 IE enthielt. Als Vehikel war vegetabilisches Öl verwendet worden. Die Wasserlöslichkeit von Benethamin-Penicillin G ist wesentlich

geringer als die von Prokain-Penicillin G, so daß es als ausgesprochenes Depot-Penicillin gilt. Dennoch kann dieser Wirkstoff auch vergleichsweise schnell ausgeschieden werden. Das Präparat H bedingte Ausscheidungszeiten von 5 und 6 Gemelken. Allerdings ist die Dosis von 150 000 IE auch die niedrigste der bei diesen Versuchen mit Penicillin G verabreichten Dosen. Das Präparat I ist mit den anderen Präparaten schlecht vergleichbar, da es Benethamin-Penicillin G und Prokain-Penicillin G enthält. Die hier vorliegende niedrige Gesamtdosis von 200 000 IE bedingte dennoch relativ lange Ausscheidungszeiten von 10 und 13 Gemelken.

Zusammenfassend kann festgestellt werden, daß für die Dauer der Ausscheidung der geprüften Penicillin G-haltigen Präparate im wesentlichen die Vehikelart verantwortlich ist.

b) Tetracyclin-haltige Präparate

Die Abbildungen 13 - 17 zeigen die Ausscheidungszeiten von Tetracyclin in der Milch nach intrazisternaler Verabreichung. Die Angaben über die Dosierung und die verabreichte Vehikelmenge beziehen sich auf das einzelne Euterviertel. Innerhalb der Gruppe der Tetracyclin-haltigen Präparate konnten keine nennenswerten Unterschiede in der Tetracyclin-Ausscheidung mit der Milch beobachtet werden, obwohl die verabreichten Dosen zwischen 250 und 400 mg schwankten und zwei verschiedene Vehikel, nämlich organische Lösungsvermittler bzw. ein Wollwachs-Alkoholgemisch mit vegetabilischem Öl verwendet wurden. Die beobachteten Ausscheidungszeiten schwankten zwischen 4 und 7 Gemelken und liegen damit innerhalb der individuellen Schwankungen der Ausscheidungszeit nach Verabreichung ein und desselben Präparates.

2. Schwankungen der Ausscheidungszeit von Penicillin G und Tetracyclin nach Verabreichung der Wirkstoffe an ein weitgehend gleiches Kollektiv von Versuchskühen

Es ist allgemein bekannt, daß die individuellen Schwankungen in der Ausscheidungszeit von Wirkstoffen mit der Milch beträchtlich sein können. Diese Schwankungen werden teilweise auf Unterschiede in der Milchleistung, im Laktationsstadium und in der Eutergesundheit zurückgeführt. Es wurde nun geprüft, welche Schwankungen in den Ausscheidungszeiten auftreten, wenn bestimmte Antibiotika an ein weitgehend gleiches Kollektiv von Versuchskühen intrazisternal verabreicht werden, d.h. an eutergesunde Kühe mit gleicher Milchleistung, im gleichen Laktationsstadium und bei gleicher Haltung und Fütterung (Tab. 4 und 5).

Aus den Versuchen mit Penicillin G geht hervor, daß hier bereits beachtliche Schwankungen in den Ausscheidungszeiten vorliegen. Bei den relativ kurzen Ausscheidungszeiten bis zu 7 Gemelken treten Schwankungen bis zu 2 Gemelken auf, bei den längeren Ausscheidungszeiten (>7 Gemelke) bereits bis zu 4 Gemelke (Tab. 4).

Die entsprechenden Versuche mit Tetracyclin ergeben, daß bei den hier allgemein relativ kurzen Ausscheidungszeiten bis zu 7 Gemelken die Schwankungen bis zu 2 Gemelke betragen (Tab. 5).

Die Untersuchungen mit Penicillin G und Tetracyclin haben weiter ergeben, daß die Kuh Nr. 840 bei jedem Versuch jeweils die kürzeste Ausscheidungszeit aufweist, die Kühe Nr. 841 und 849 jeweils die längste. Bei der Kuh Nr. 840 konnte diese Feststellung bei al-

Tabelle 4

Ausscheidungszeiten von Penicillin G in Milch bei eutergesunden
Kühen mit gleicher Milchleistung, im gleichen Laktationsstadium
und bei gleicher Haltung und Fütterung

Kuh-Nr.	Ausscheidungszeiten ⁺ von Penicillin G in Milch nach intrazisternaler Verabreichung von Präparat									
	A	B	C	D	E	F	G	H	J	
840	4	-	-	-	5	-	-	5	10	
841	-	-	11	-	-	12	-	6	13	
842	-	6	9	-	-	8	-	6	-	
847	5	-	9	12	6	-	-	-	-	
848	-	8	-	13	-	12	13	-	-	
849	6	8	-	-	7	-	15	-	-	

⁺) Anzahl der Gemelke post applicationem mit Penicillin G-Gehalten Δ 0,008 IE/ml

Tabelle 5

Ausscheidungszeiten von Tetracyclin in Milch bei eutergesunden
Kühen mit gleicher Milchleistung, im gleichen Laktationsstadium
und bei gleicher Haltung und Fütterung

Kuh-Nr.	Ausscheidungszeiten [†] von Tetracyclin in Milch nach intrazisternaler Verabreichung von Präparat					
	K ₁	K ₂	L	M	N	
840	4	4	-	5	-	
841	-	6	-	-	6	
842	4	4	-	6	-	
847	-	4	4	-	5	
848	-	5	-	-	-	
849	-	-	5	7	-	

^{†\geq 0,3 mcg/ml}

len 7 Versuchen gemacht werden, in die diese Kuh einbezogen wurde. Bei den Kühen Nr. 841 und 849 waren es entsprechend 6 Versuche (Tab. 4 und 5).

3. Wirkstoffkonzentrationen in Gemelkfraktionen nach Verabreichung von Penicillin G- und Tetracyclinpräparaten

a) Penicillin G-haltige Präparate

Beim Vergleich der Antibiotika-Konzentrationen von Gemelkfraktionen muß berücksichtigt werden, daß der Fettgehalt der Milch in den einzelnen Gemelkfraktionen stark variiert und daß der Fettgehalt vor allem im Endgemelk sehr hoch ist.

Um vom Fettgehalt ausgehende Beeinflussungen zu erkennen, mußte überprüft werden, ob die Diffusion von Penicillin G im Anfangs-, Gesamt- und Endgemelk mit der gleichen Intensität verläuft. Zu diesem Zweck wurden Standardreihen von Penicillin G-Kalium in diesen drei Medien angelegt, ausgehend von 0,5 IE (1. Verdünnungsstufe) bis 0,016 IE (6. Verdünnungsstufe) in fallender geometrischer Reihe. Zum Vergleich wurden außerdem Standardreihen in sterilisierter Magermilch angelegt. Die in diesen vier Medien geprüften Standardreihen zeigten keine signifikanten Unterschiede. Es wurde als Ausgangsmaterial hemmstofffreie Rohmilch bzw. Magermilch herangezogen.

Um den Umfang der Unterschiede der Antibiotika-Konzentrationen in den Gemelkfraktionen der Versuchskühe zu ermitteln, wurden Anfangs-, Viertel- und Endgemelke der einzelnen Euterviertel sowie die zugehörigen Gesamtgemelke untersucht (Tab. 6 und 7). Tabelle 6 zeigt die Konzentrationsunter-

Tabelle 6

Signifikante Unterschiede der Penicillin G - Konzentrationen
in verschiedenen Gemelkfraktionen

Präparat	Anzahl der auswertbaren Gesamtgemelke	Prozentsatz der Proben mit signifikant höheren (a) und mit signifikant niedrigeren (b) Penicillin G - Konzentrationen als im entsprechenden Gesamtgemelk		
		Anfangsgemelk	Viertelgemelk	Endgemelk
A	31	48,4	48,4	58,0
		45,2	41,9	35,5
B	15	66,7	60,0	53,3
		33,3	40,0	46,7
C	33	48,5	36,4	63,6
		45,5	48,5	33,3
D	33	78,8	30,3	72,7
		18,2	36,4	18,2
E	14	64,3	50,0	71,4
		35,7	35,7	28,6
F	63	47,6	42,9	63,5
		41,3	44,4	27,0
G	41	61,0	48,8	63,4
		29,3	46,3	19,5
J	16	81,3	37,5	87,5
		12,5	31,3	6,3
	246	58,5	43,1	65,4
		34,6	41,3	26,4

Tabelle 7

Signifikante Unterschiede der Tetracyclin - Konzentrationen
in verschiedenen Gemelkfraktionen

Präparat	Anzahl der auswertbaren Gesamtgemelke	Prozentsatz der Proben mit signifikant höheren (a) und mit signifikant niedrigeren (b) Tetracyclin - Konzentrationen als im entsprechenden Gesamtgemelk			
		Anfangsgemelk	Viertelgemelk	Endgemelk	
K ₁	14	a	71,4	57,1	71,4
		b	14,3	14,3	14,3
K ₂	68	a	83,8	32,4	89,7
		b	5,9	30,9	0
L	19	a	94,7	73,7	78,9
		b	5,3	21,1	15,8
	101	a	84,2	43,6	85,1
		b	6,9	26,7	5,0

schiede von Penicillin G in Gemelkfraktionen nach Verabreichung von acht verschiedenen Penicillin G-Präparaten. Für jedes Präparat ist die Anzahl der vergleichbaren Fälle gesondert ausgewertet worden. Die Antibiotika-Konzentration im Gesamtgemelk wurde mit den Antibiotika-Konzentrationen der zugehörigen 4 Anfangs-, 4 Viertel- und der 4 Endgemelke in Beziehung gesetzt und die signifikanten Unterschiede in den Konzentrationen ermittelt.

Nach intrazisternaler Verabreichung der verschiedenen Penicillin G-Präparate wies die Mehrzahl der Anfangs- und Endgemelkproben, insgesamt betrachtet, signifikant höhere Penicillin G-Spiegel auf als die entsprechenden Gesamtgemelkproben. Ein höherer Prozentsatz Anfangs- und Endgemelke zeigte signifikant höhere Penicillin G-Konzentrationen als die zugehörigen Viertelgemelke. Die Endgemelke zeigten die vergleichsweise höchste Quote von signifikant höheren Penicillin G-Gehalten. Beim Vergleich der Viertelgemelke mit den zugehörigen Gesamtgemelken fallen die etwa gleichen Anteile von signifikant höheren und signifikant niedrigeren Penicillin G-Konzentrationen auf.

Es ist bemerkenswert, daß bei 3 der 8 geprüften Präparate keine Mehrheit der Anfangsgemelkproben mit signifikant höheren Penicillin G-Gehalten vorlag, während die Mehrheit der Endgemelkproben stets signifikant höhere Penicillin G-Konzentrationen aufwies. Die Gesamtquoten der Gemelkfraktionen mit signifikant höheren bzw. niedrigeren Penicillin G-Gehalten als die zugehörigen

Gesamtgemelke wurden aus der Anzahl der entsprechenden Proben neu errechnet.

b) Tetracyclin-haltige Präparate

Über die Unterschiede der Tetracyclin-Konzentrationen in den einzelnen Gemelkfraktionen informiert Tabelle 7. Die Ergebnisse zeigen grundsätzlich die gleichen Tendenzen wie sie für den Penicillin G-Gehalt in Anfangs-, Viertel-, End- und zugehörigen Gesamtgemelken ermittelt wurden. Die vergleichsweise höchsten Tetracyclin-Spiegel wurden in Anfangs- und Endgemelkfraktionen ermittelt, wobei in 85,1 % bzw. 84,2 % der Fälle die Endgemelkproben bzw. die Anfangsgemelkproben signifikant höhere Tetracyclin-Konzentrationen enthielten als die zugehörigen Gesamtgemelke. Die Tetracyclin-Spiegel in den Viertelgemelken zeigen gegenüber den entsprechenden Penicillin G-Werten Unterschiede. 43,6 % der untersuchten Viertelgemelkproben enthielten signifikant höhere Tetracyclin-Konzentrationen als die zugehörigen Gesamtgemelkproben und nur 26,7 % signifikant niedrigere.

Die geprüften Antibiotika sind den unterschiedlichsten Konzentrationen in Anfangs-, Viertel-, End- und Gesamtgemelk entsprechend gehäuft zu unterschiedlichsten Zeiten ausgeschieden. Es wurde geprüft, welche Ausscheidungszeiten ermittelt werden, je nachdem, ob die einzelnen Gemelkfraktionen oder das zugehörige Gesamtgemelk als Beurteilungsgrundlage herangezogen wurden (Tab. 8).

Tabelle 8

Festlegung der Ausscheidungszeit nach den Wirkstoff-Spiegeln im
Gesamt-, Anfangs-, Viertel- bzw. Endgemelk

Präparat	Kuh-Nr.	Festlegung der Ausscheidungszeit (Gemelke p.appl.) nach			
		Gesamtgemelk	Anfangsgemelk	Viertelgemelk	Endgemelk
A	840	4	4	4	4
	847	5	6	6	6
	849	6	7	7	7
B	842	6	7	6	7
	848	8	9	9	9
	849	8	8	8	8
C	841	11	12	11	14
	842	9	10	10	10
	847	9	9	9	10
D	847	12	15	12	12
	848	13	15	14	15

Tabelle 8 (Fortsetzung)

Präparat	Kuh-Nr.	Festlegung der Ausscheidungszeit (Gemelke p.appl.) nach			
		Gesamtgemelk	Anfangsgemelk	Viertelgemelk	Endgemelk
E	840	5	7	7	5
	847	6	7	6	7
	848	7	7	7	8
P	841	12	12	12	15
	842	8	8	8	9
	848	12	12	12	15
G	848	13	16	15	16
	849	15	15	15	16
H	840	5	5	5	6
	841	6	6	6	7
	842	6	6	6	7
J	840	10	11	10	12
	841	13	14	14	15
K ₁	840	4	5	4	5
	842	4	4	4	4

Tabelle 8 (Fortsetzung)

Präparat	Kuh-Nr.	Festlegung der Ausscheidungszeit (Gemelte p.appl.) nach			
		Gesamtgemelk	Anfangsgemelk	Viertelgemelk	Endgemelk
K ₂	840	4	5	4	4
	841	6	6	6	7
	842	4	4	4	5
	847	4	5	5	5
	848	5	5	5	5

4. Wirkstoff-Konzentrationen in Gemelkfraktionen nach Verabreichung von Penicillinen in jeweils ein einzelnes Euterviertel von Versuchskühen

In einem orientierenden Versuch wurde die Ausscheidung von Penicillin G-Natrium, Prokain-Penicillin G und Oxacillin nach intrazisternaler Applikation in jeweils ein einzelnes Euterviertel von Versuchskühen geprüft. Zu diesem Zweck wurden jeweils 3 Mega IE Penicillin G-Natrium, 2 Mega IE Prokain-Penicillin G und 1.000 mg Oxacillin in das rechte Vorderviertel von je zwei Versuchskühen infundiert. Beim Präparat A handelte es sich um "Penicillin Mastitis Injektor" (PFIZER), beim Präparat B um "Strepto-Penicillin-Suspension 45%" (FRIESOYTHE) und beim Präparat C um "Stapenor Salbe" (BAYER). Die Präparate A und B waren wässrige Lösungen bzw. Suspensionen, während es sich beim Präparat C um eine Salbe handelte. Als Ausscheidungszeit für Penicillin G und Oxacillin wurde die Anzahl der Gesamtgemelke definiert, die $\geq 0,008$ IE/ml bzw. $\geq 0,016$ mcg/ml enthielten.

Die Ausscheidungszeit von Penicillin G (bezogen auf das Gesamtgemelk) nach intrazisternaler Verabreichung von 3 Mega IE Penicillin G-Natrium (Präparat A) betrug 5 bzw. 6 Gemelke, bei 2 Mega IE Prokain-Penicillin G (Präparat B) 6 bzw. 7 Gemelke. Für 1.000 mg Oxacillin (Präparat C) wurden 5 bzw. 6 Gemelke als Ausscheidungszeit ermittelt.

Die Gemelkfraktionen der unbehandelten Euterviertel wurden auf ihren Wirkstoff-Gehalt untersucht. Tabelle 9 informiert über die Unterschiede der Wirkstoff-Konzentrationen in Anfangs-, Viertel und Endgemelkfraktionen der unbehandelten Viertel.

Tabelle 9

Signifikante Unterschiede der Penicillin G- und Oxacillin-Konzentrationen
in Gemelkfraktionen der unbehandelten Euterviertel nach intrazisternaler
Applikation in ein einzelnes Euterviertel

Antibiotikum	Anzahl der auswert- baren Viertelgemelke	Anzahl der Fälle mit gegenüber dem Viertelgemelk signifikant höheren (a) und signifikant niedrigeren (b) Wirk- stoff-Konzentrationen		
		Anfangsgemelk		Endgemelk
Penicillin G-Natrium	18	a	2	-
		b	14	16
Prokain-Penicillin G	22	a	2	1
		b	18	19
Oxacillin	17	a	2	1
		b	13	14
	57	a	6 (= 10,5%)	2 (= 3,5%)
		b	45 (= 78,9%)	49 (= 85,9%)

Der Tabelle 9 ist zu entnehmen, daß erhebliche Unterschiede der Penicillin G bzw. Oxacillin-Konzentrationen in den Gemelkfraktionen der unbehandelten Viertel ermittelt wurden. Bemerkenswert ist, daß die Verteilung der signifikant niedrigeren bzw. höheren Antibiotika-Spiegel in den Anfangs-, Viertel- und Endgemelken anders verlief wie in den Versuchen mit Behandlung aller vier Euterviertel. Die vergleichsweise höchsten Wirkstoff-Konzentrationen wurden in den Viertelgemelkfraktionen ermittelt. Von 57 vergleichbaren Anfangs-, Viertel- und Endgemelken hatten 78,9 % der Viertelgemelke signifikant höhere Antibiotika-Spiegel als die zugehörigen Anfangsgemelke, und in 85,9 % der Fälle lagen die Antibiotika-Spiegel der Viertelgemelke über denen der zugehörigen Endgemelke. Die Ausscheidung von Penicillin G und Oxacillin war in den Gemelkfraktionen der unbehandelten Viertel um 1 bis 2 Melkzeiten früher beendet als im Gesamtgemelk, nämlich für Penicillin G-Natrium nach dem 4., für Prokain-Penicillin G nach dem 5. und für Oxacyllin nach dem 3. Gemelk post applicationem.

Beachtenswert erscheint, daß die Viertelgemelkproben des rechten Hinterviertels in der Mehrzahl der Fälle signifikant höhere Antibiotikum-Spiegel aufwiesen als die Viertelgemelkproben aus den Vierteln der linken Euterhälfte. In 36 von 42 vergleichbaren Fällen wurden in den Viertelgemelken des rechten Hinterviertels signifikant höhere Wirkstoffkonzentrationen ermittelt als in den entsprechenden Gemelkfraktionen aus den beiden linken Eutervierteln.

Zwölf Stunden nach intrazisternaler Verabreichung der Präparate A, B und C wurden in den Viertelgemelken der unbehandelten Viertel die Maximal-Spiegel ermittelt.

Sie betrugen 0,37 IE und 0,4 IE Penicillin G/ml (Präparat A), 2,2 IE und 4,2 IE Penicillin G/ml (Präparat B) und 0,2 mcg und 0,4 mcg Oxacillin/ml (Präparat C). Im 2. Gemelk betrugen sie 0,1 IE und 0,1 IE Penicillin G/ml, 0,2 IE und 0,2 IE Penicillin G/ml und 0,1 und 0,2 mcg Oxacillin/ml. Für das 3. Gemelk lauteten die entsprechenden Werte 0,04 IE und 0,05 IE Penicillin G/ml, 0,1 IE und 0,09 IE Penicillin G/ml und 0,04 und 0,01 mcg/ml. Im 4. Gemelk konnten Milchspiegel nur noch bei jeweils einer Kuh ermittelt werden (0,01 IE Penicillin G/ml für Präparat A und 0,02 IE Penicillin G/ml für Präparat B). Lediglich in einem Viertelgemelk der mit Präparat B behandelten Kühe konnte für die 5. Melkzeit noch Penicillin nachgewiesen werden (0,01 IE/ml). Die übrigen Viertelgemelke waren hemmstofffrei.

Abb. 1: Penicillin - G - Kalium - Standardgerade

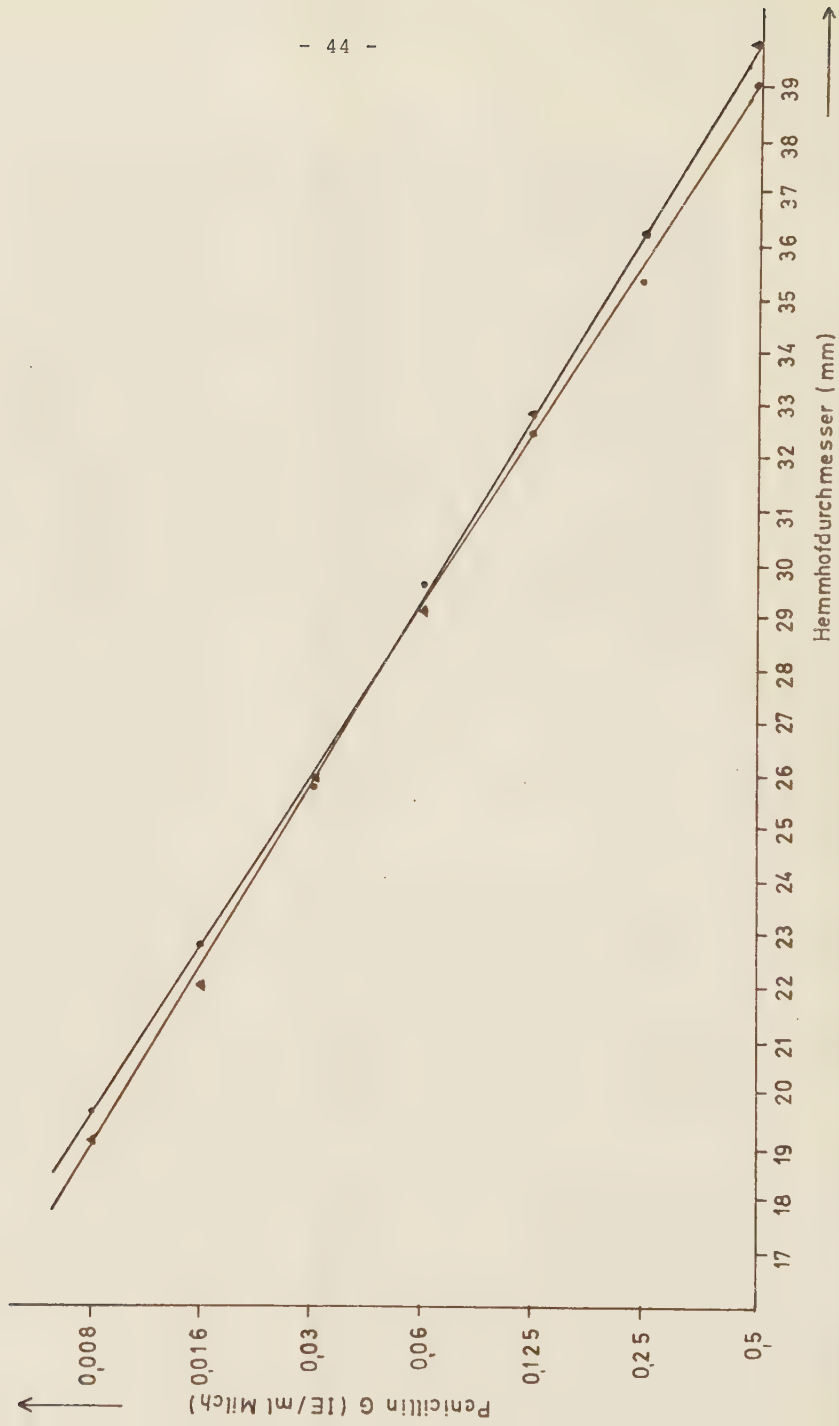


Abb. 2: Tetracyclin - Standardgerade

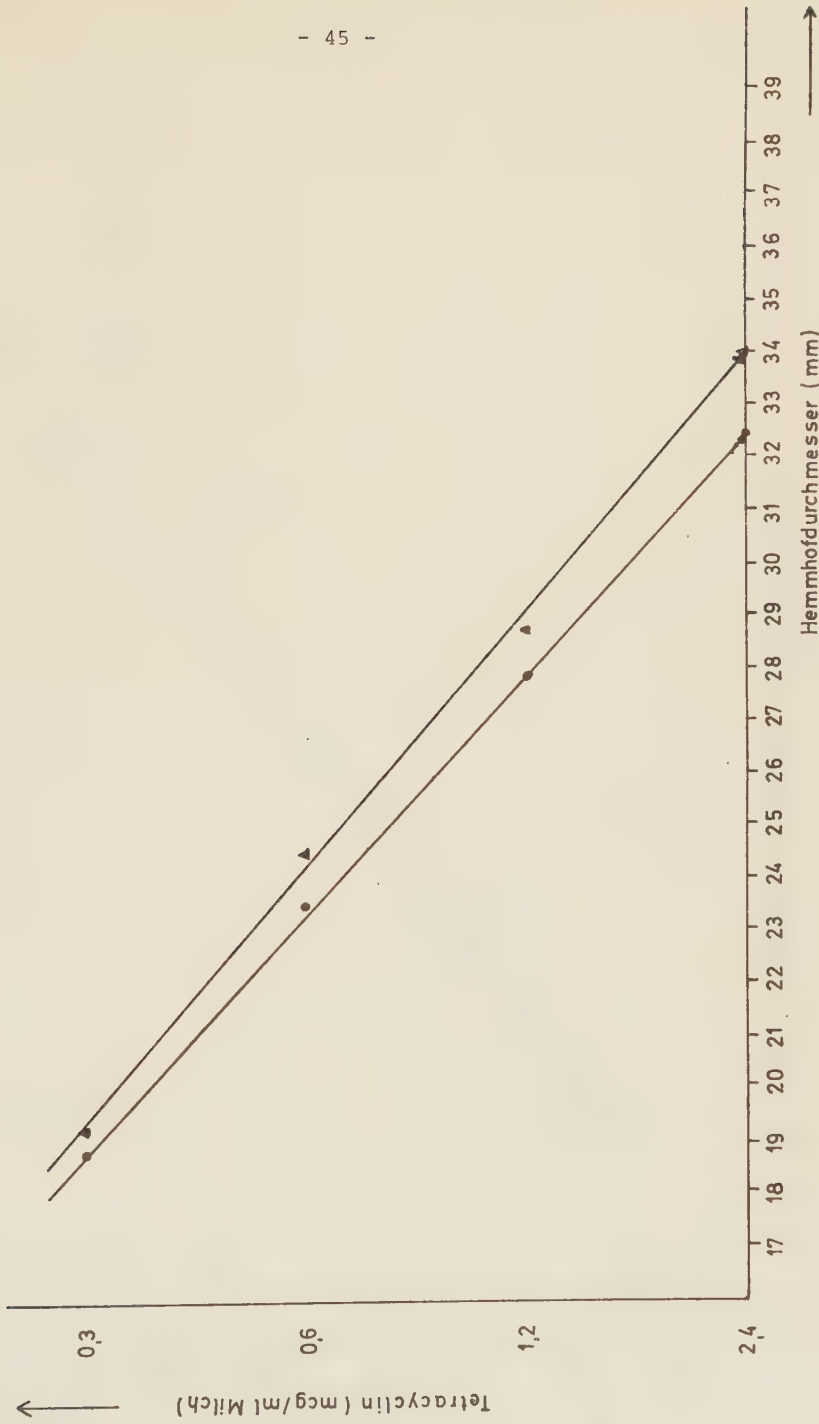


Abb. 3: Oxacillin - Standardgerade

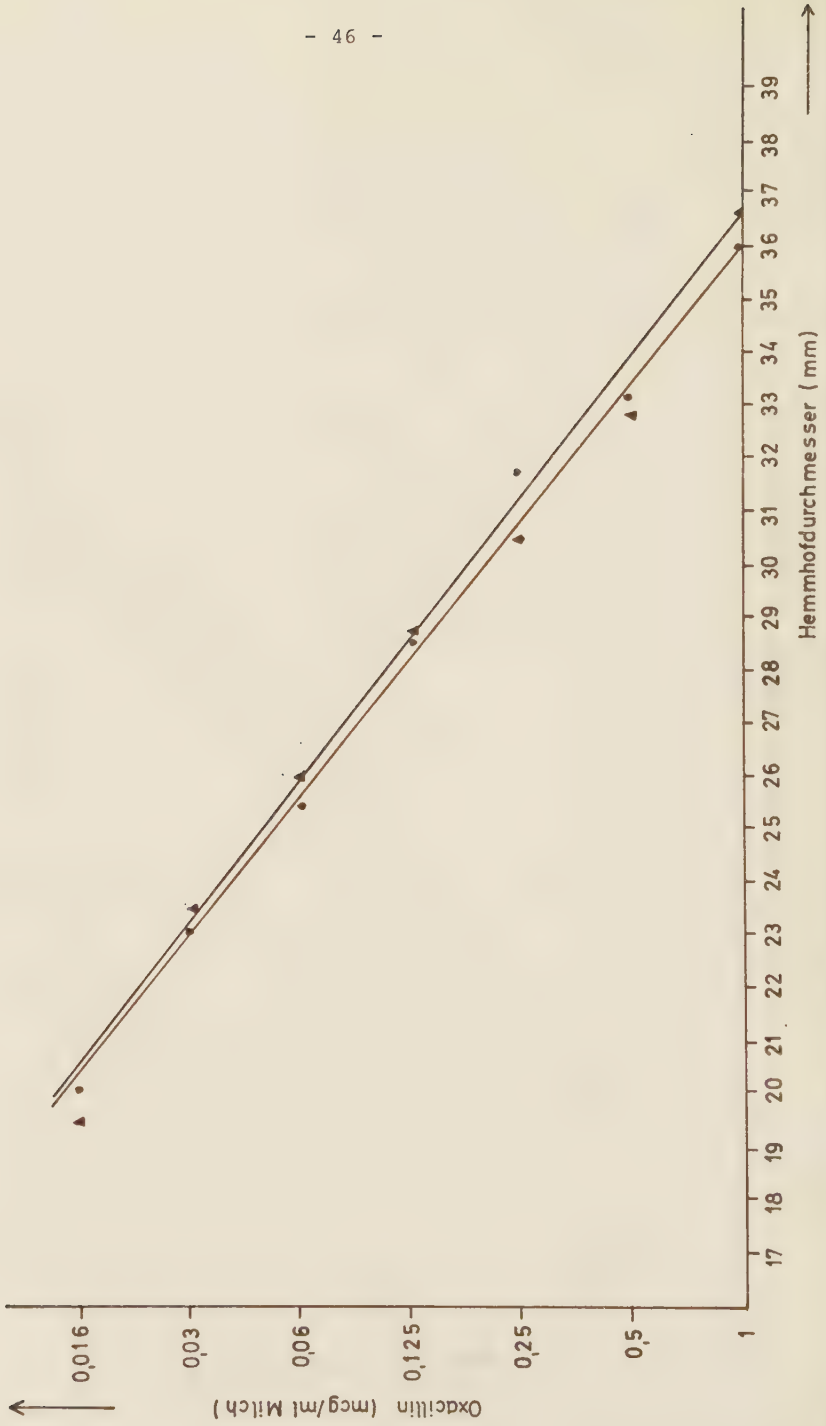


Abb. 4: Penicillin G - Milchspiegel

(Präparat A)

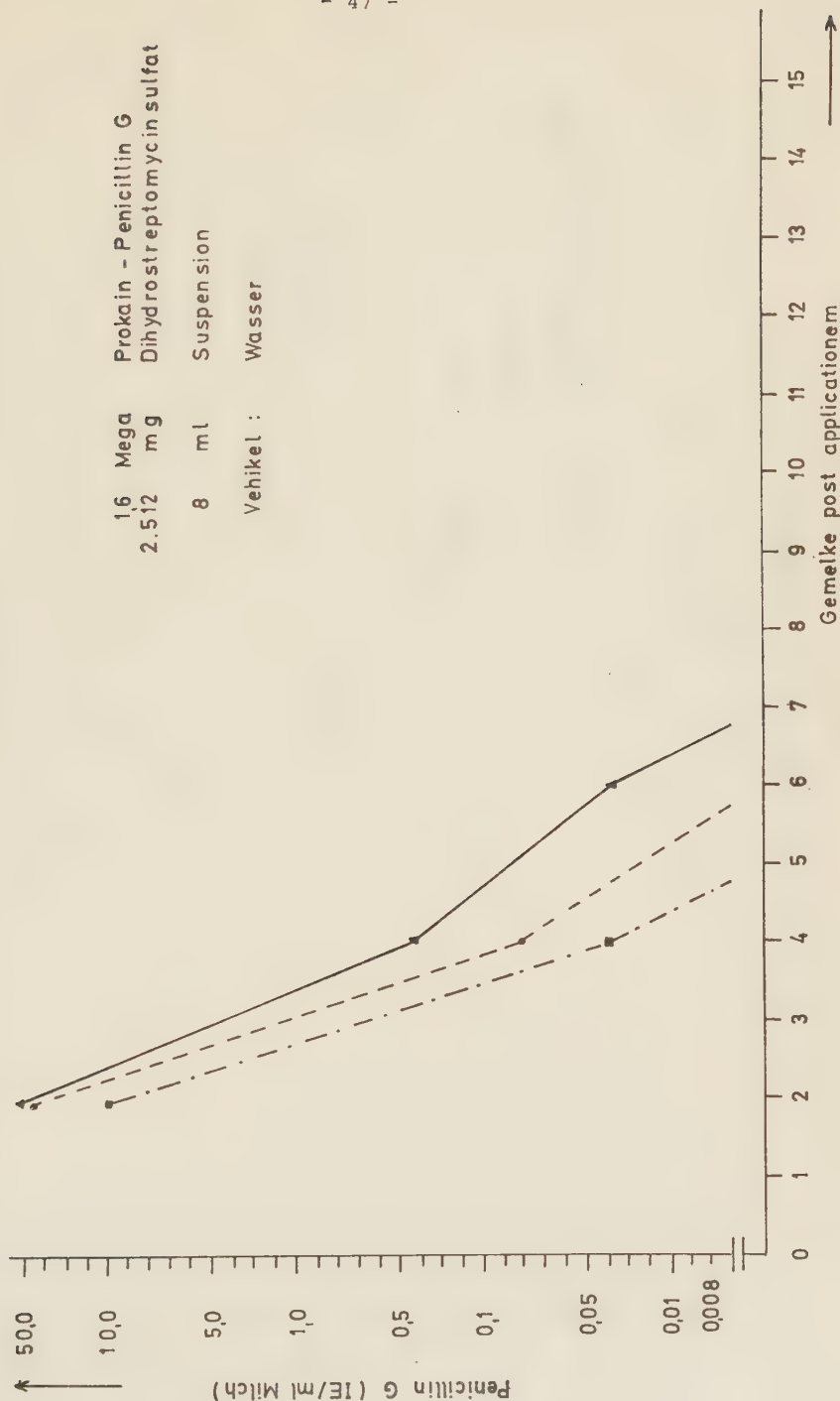


Abb. 5: Penicillin G - Milchspiegel

(Präparat B)

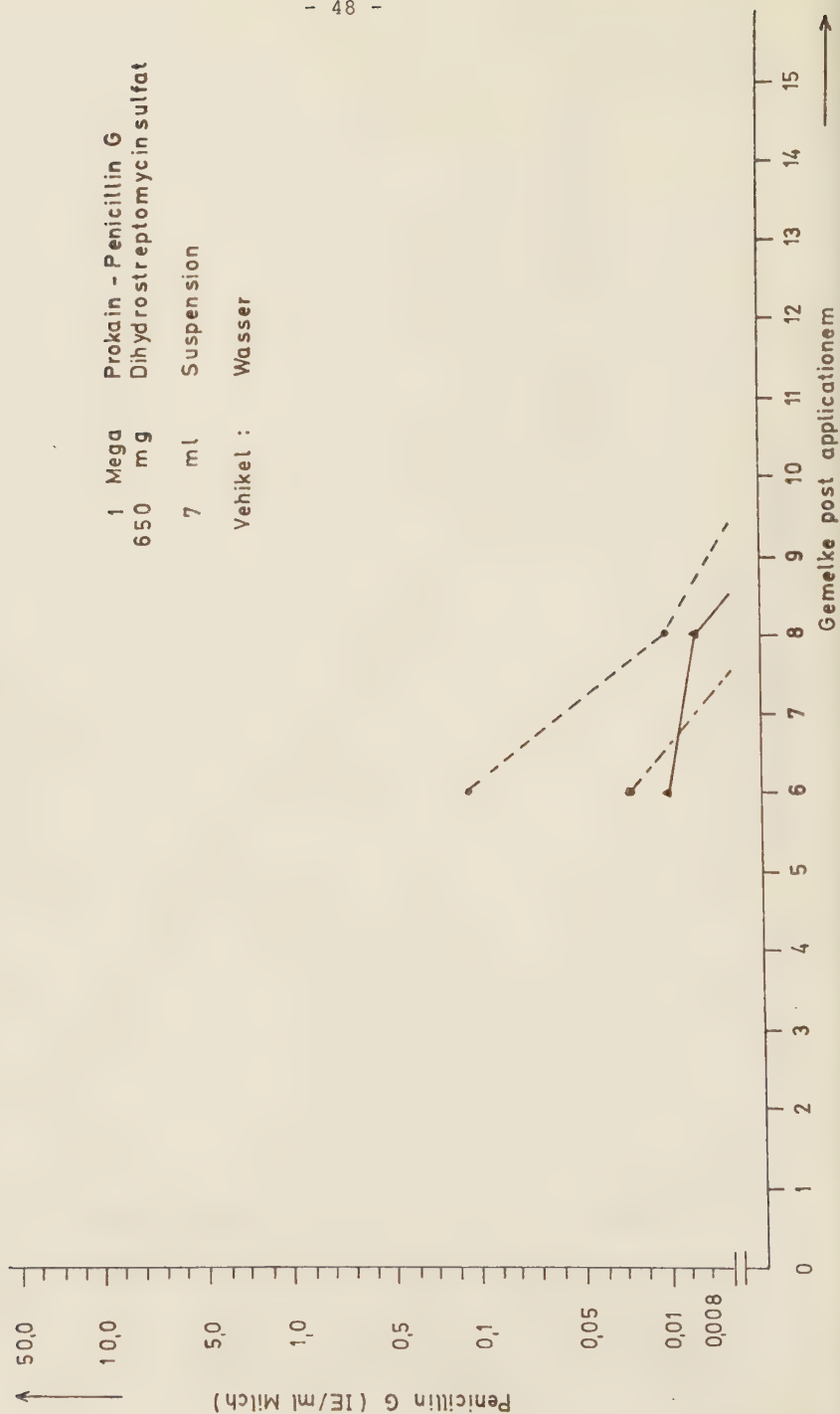


Abb. 6: Penicillin G - Milchspiegel
(Präparat C)

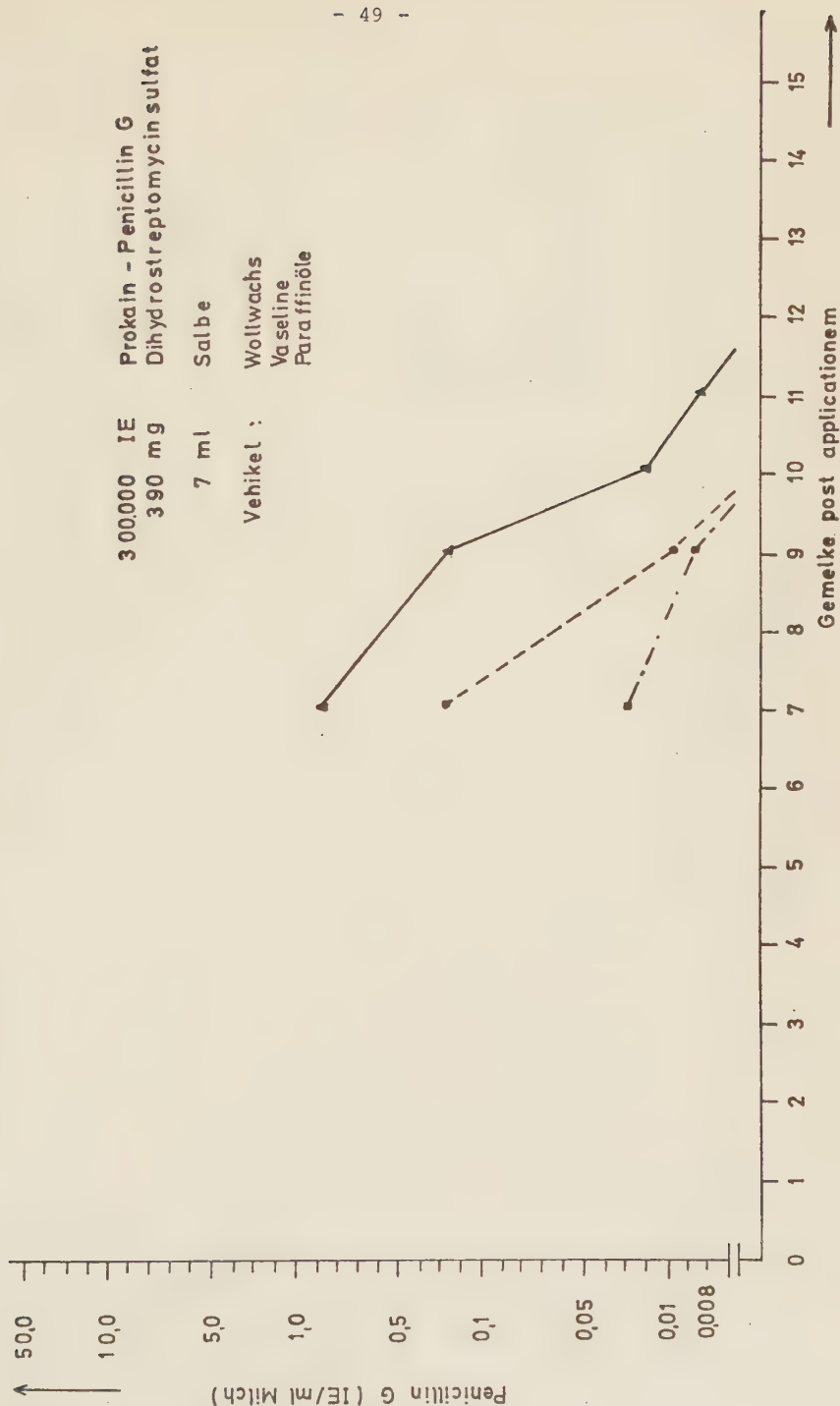


Abb. 7: Penicillin G - Milchspiegel

(Präparat D)

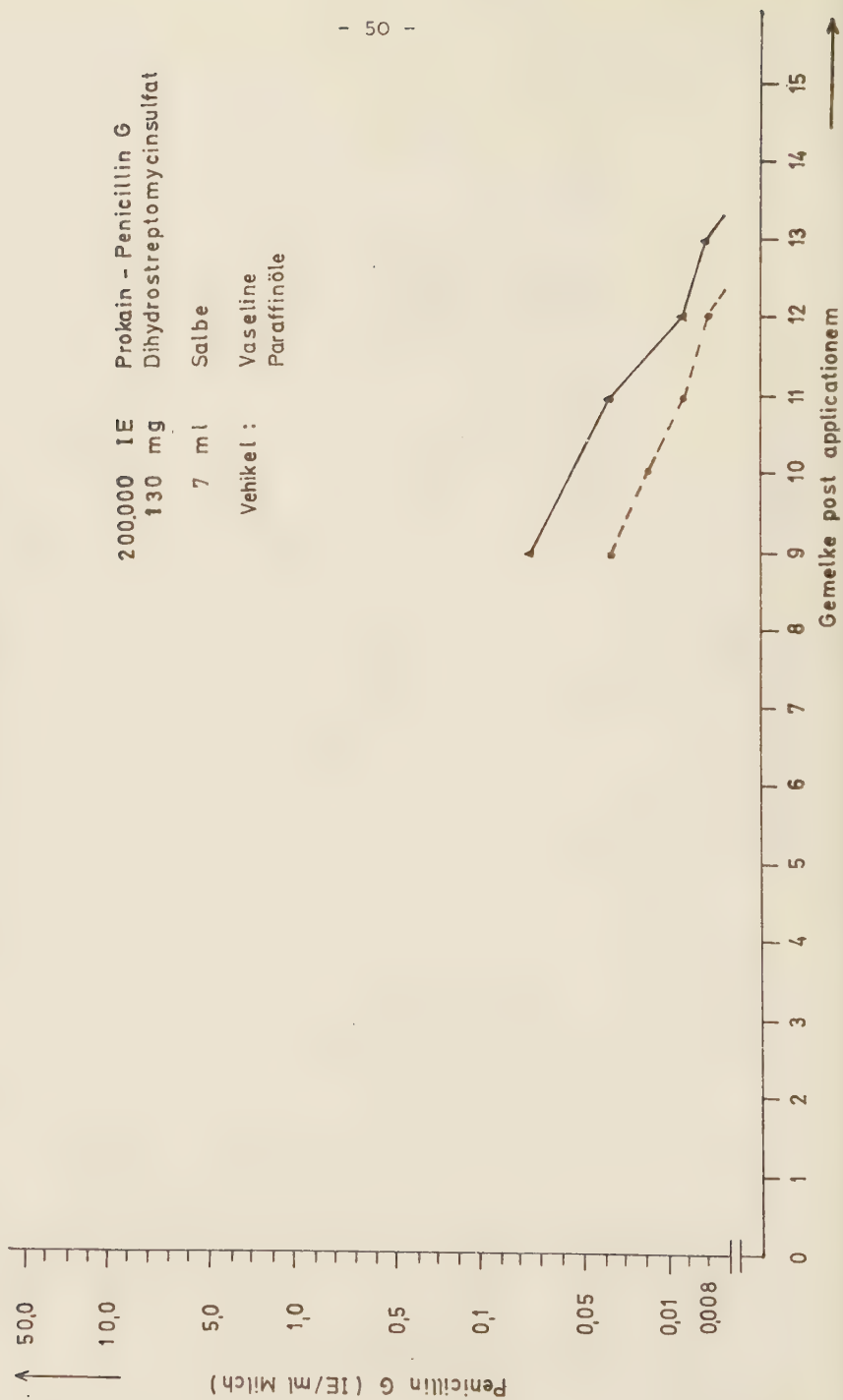


Abb. 8: Penicillin G - Milchspiegel

(Präparat E)

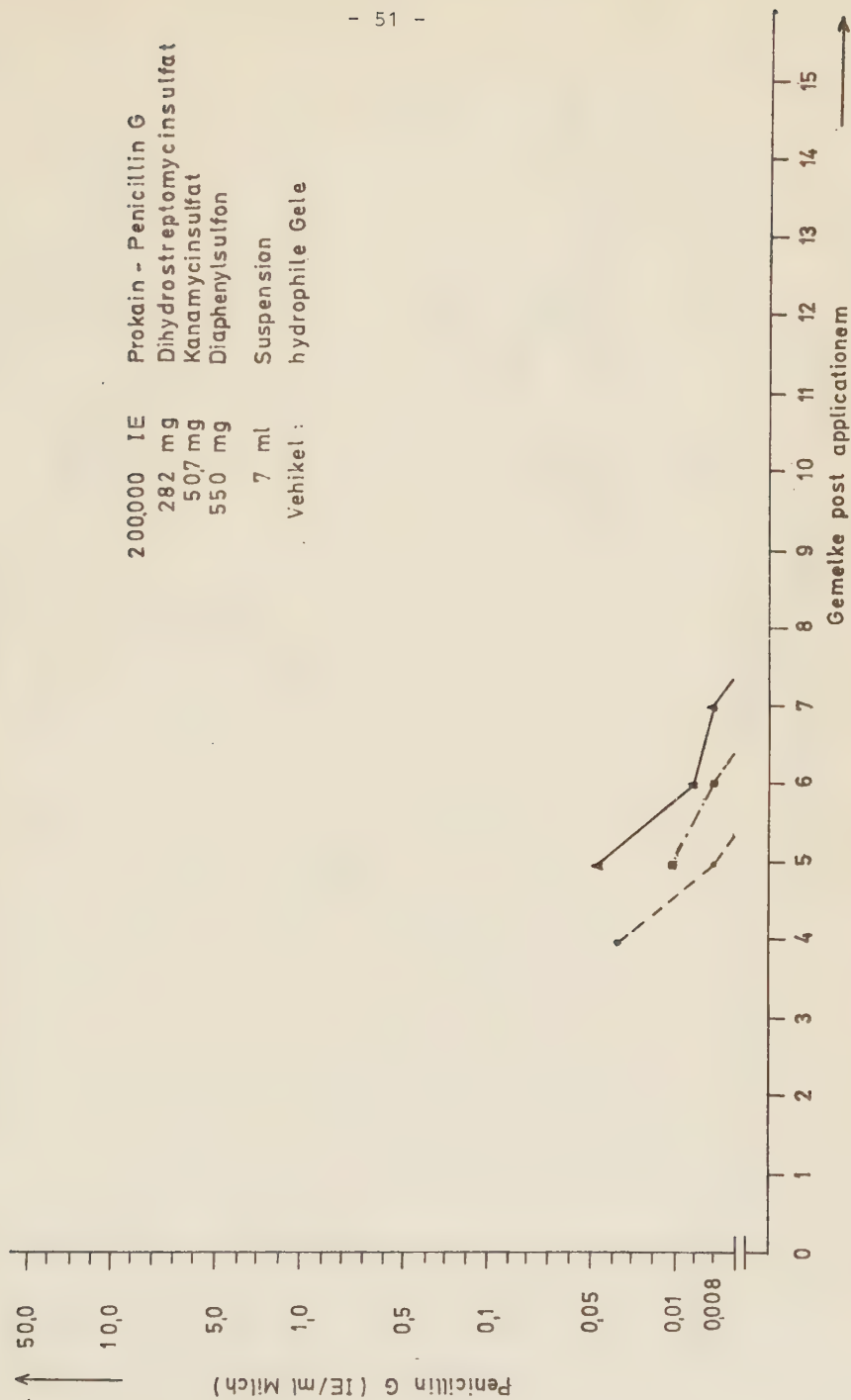


Abb. 9 : Penicillin G - Milchspiegel

(Präparat F)

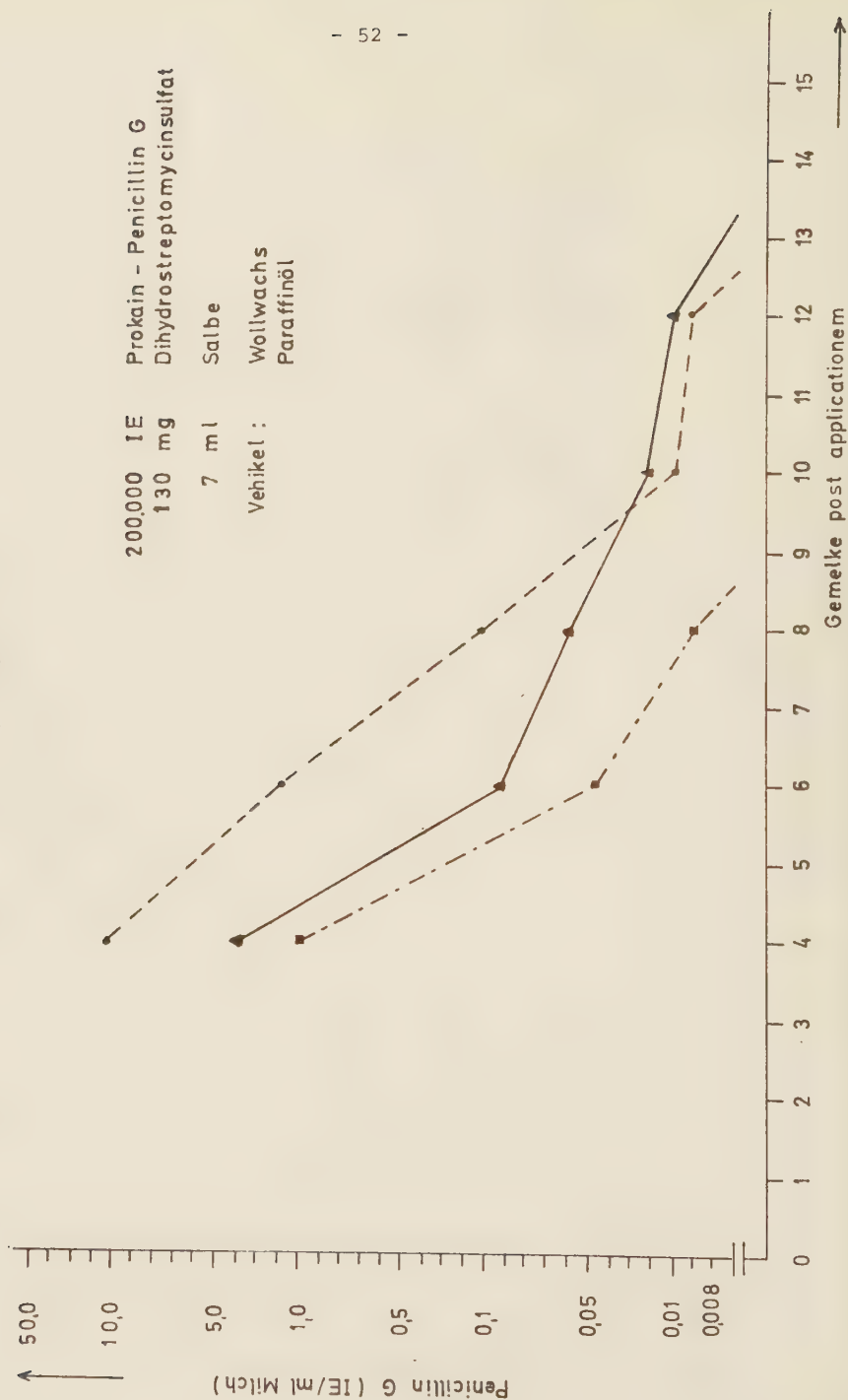


Abb.10: Penicillin G - Milchspiegel

(Präparat G)

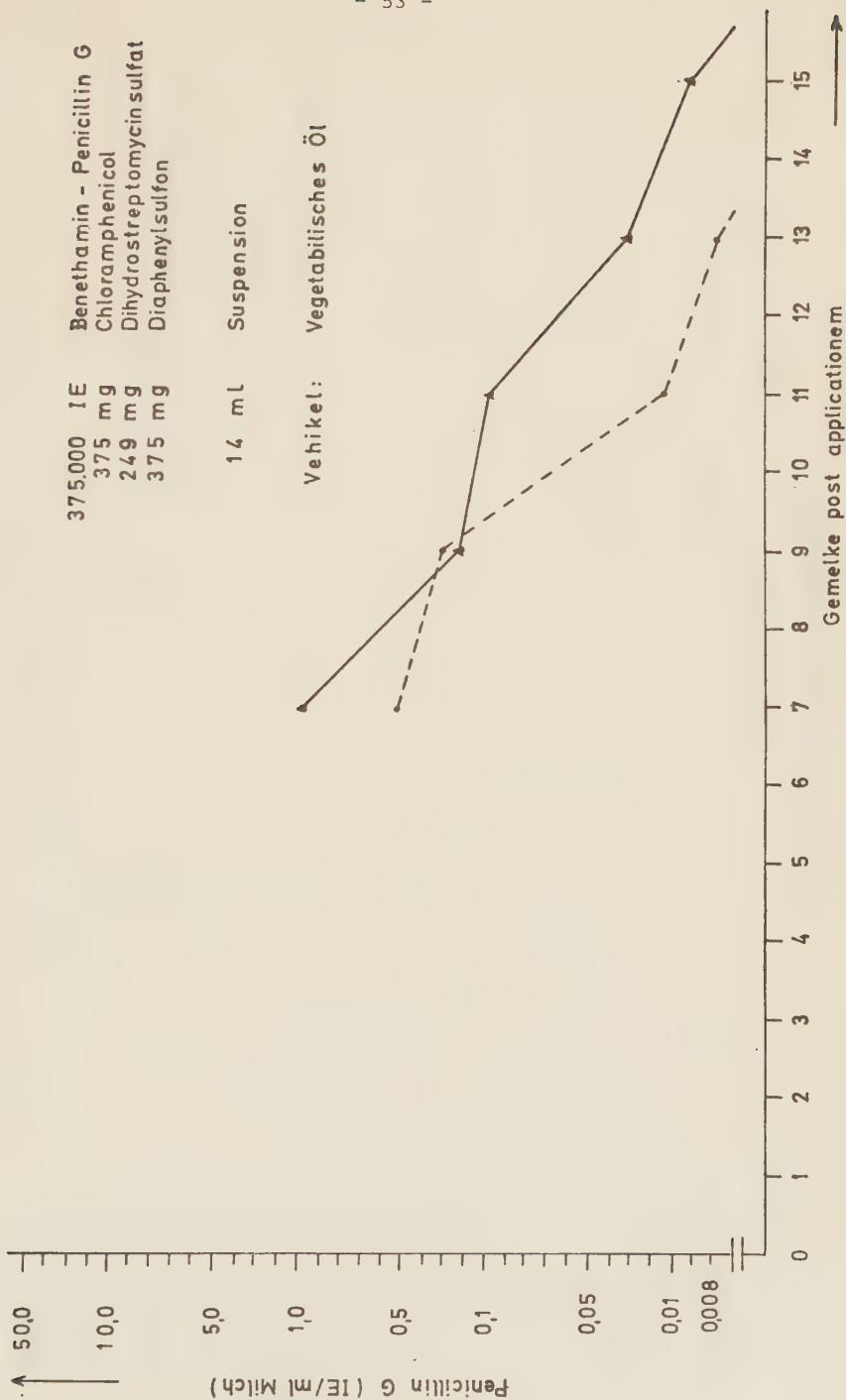


Abb. 11: Penicillin G - Milchspiegel

(Präparat H)

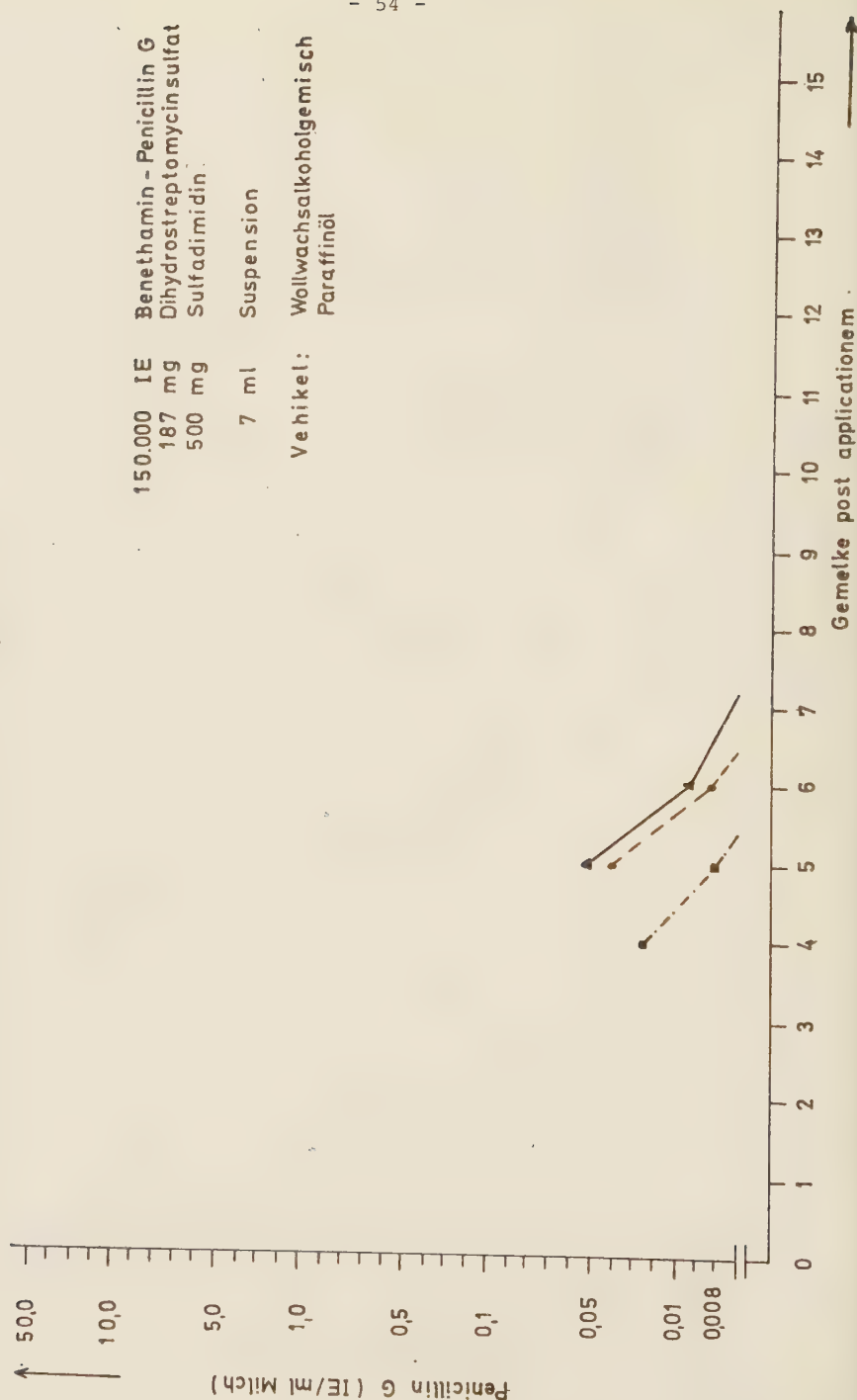


Abb. 12 : • Penicillin G – Milchspiegel

(Präparat J)

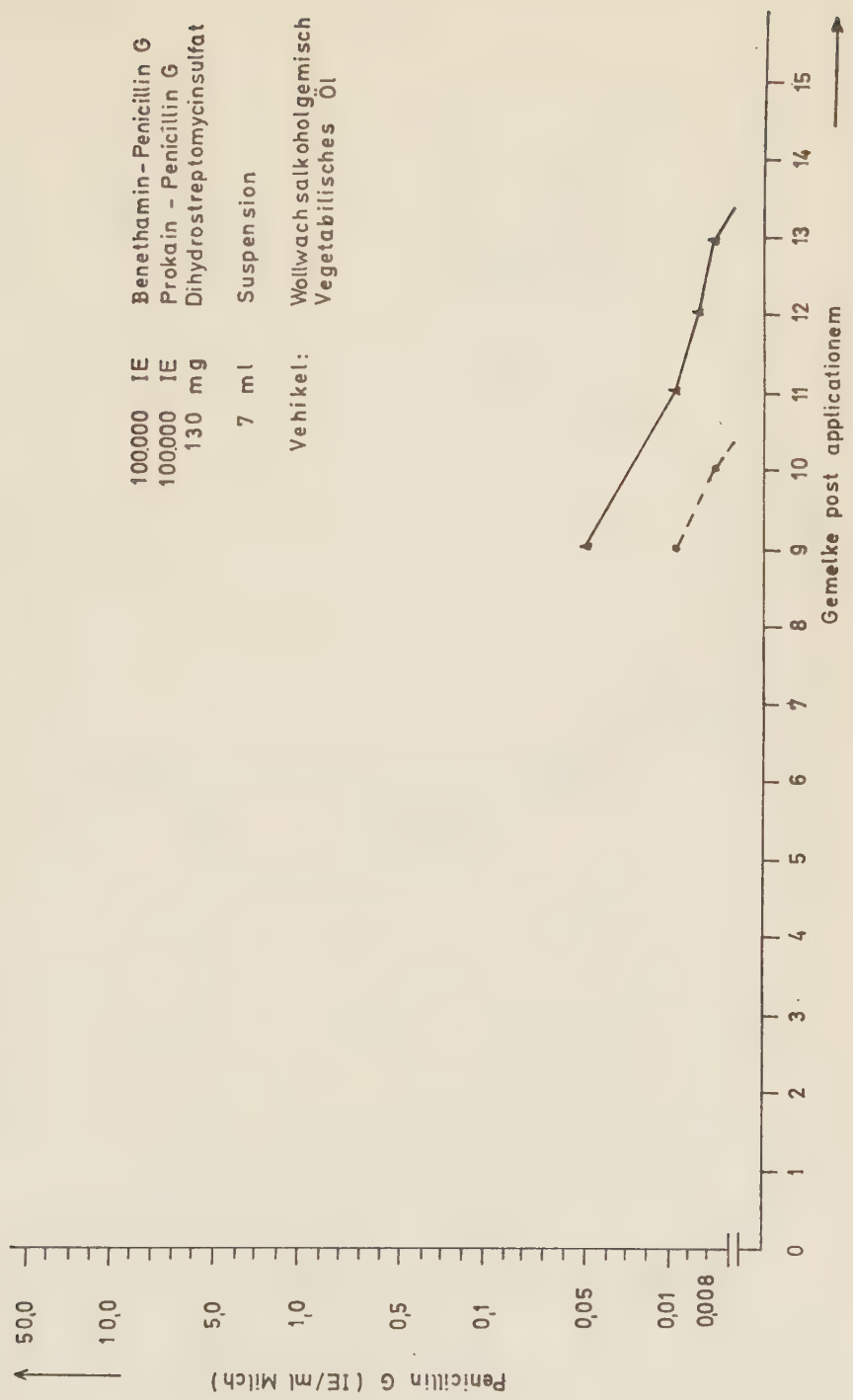


Abb. 13: Tetracyclin - Milchspiegel

(Präparat K₁)

400 mg Tetracyclin-HCl

8 ml Suspension

Vehikel: Glycole
Wasser

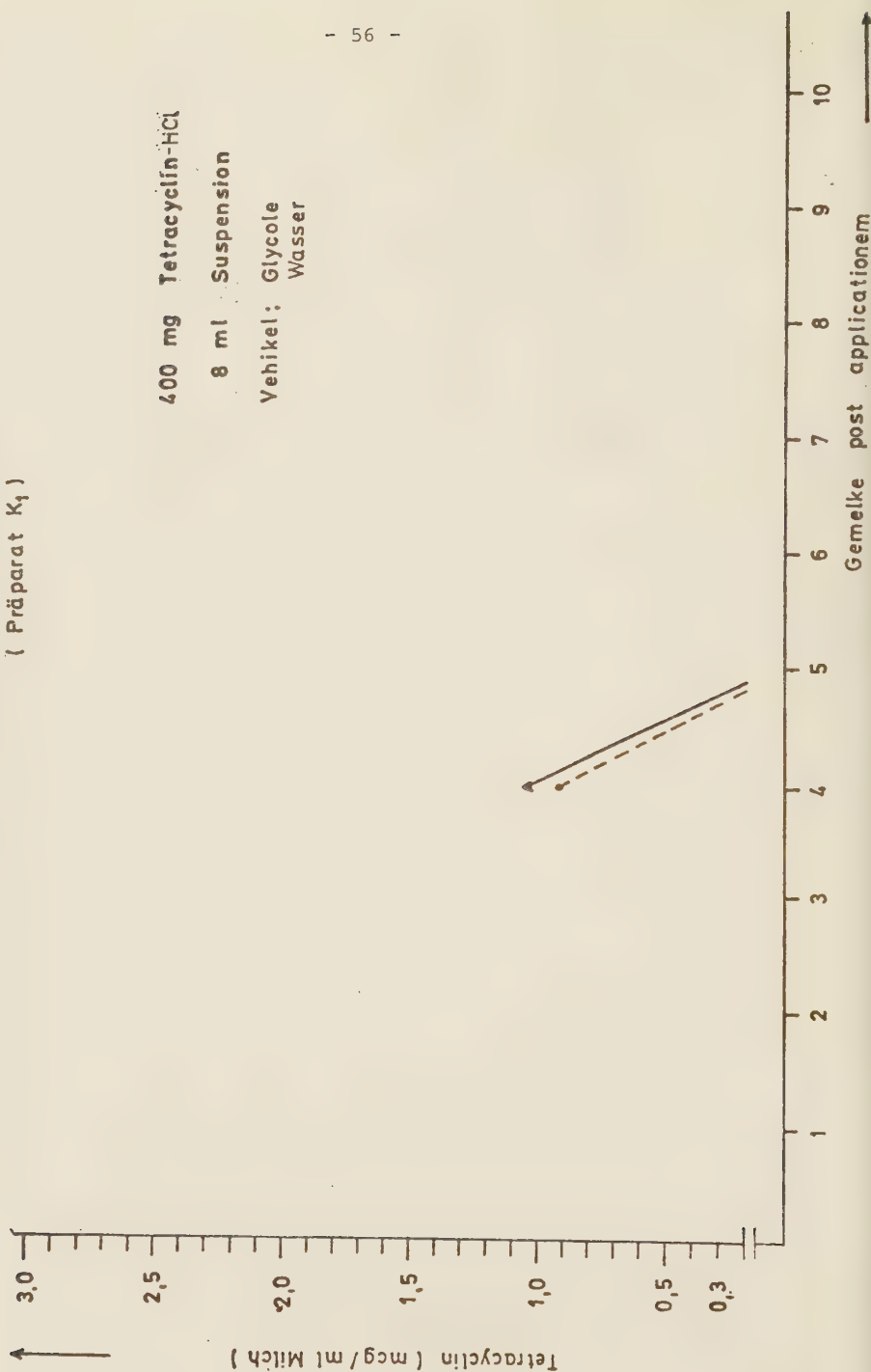


Abb. 14: Tetracyclin - Milchspiegel

(Präparat K₂)

250 mg Tetracyclin-HCl

5 ml Suspension

Vehikel: Glycole
Wasser

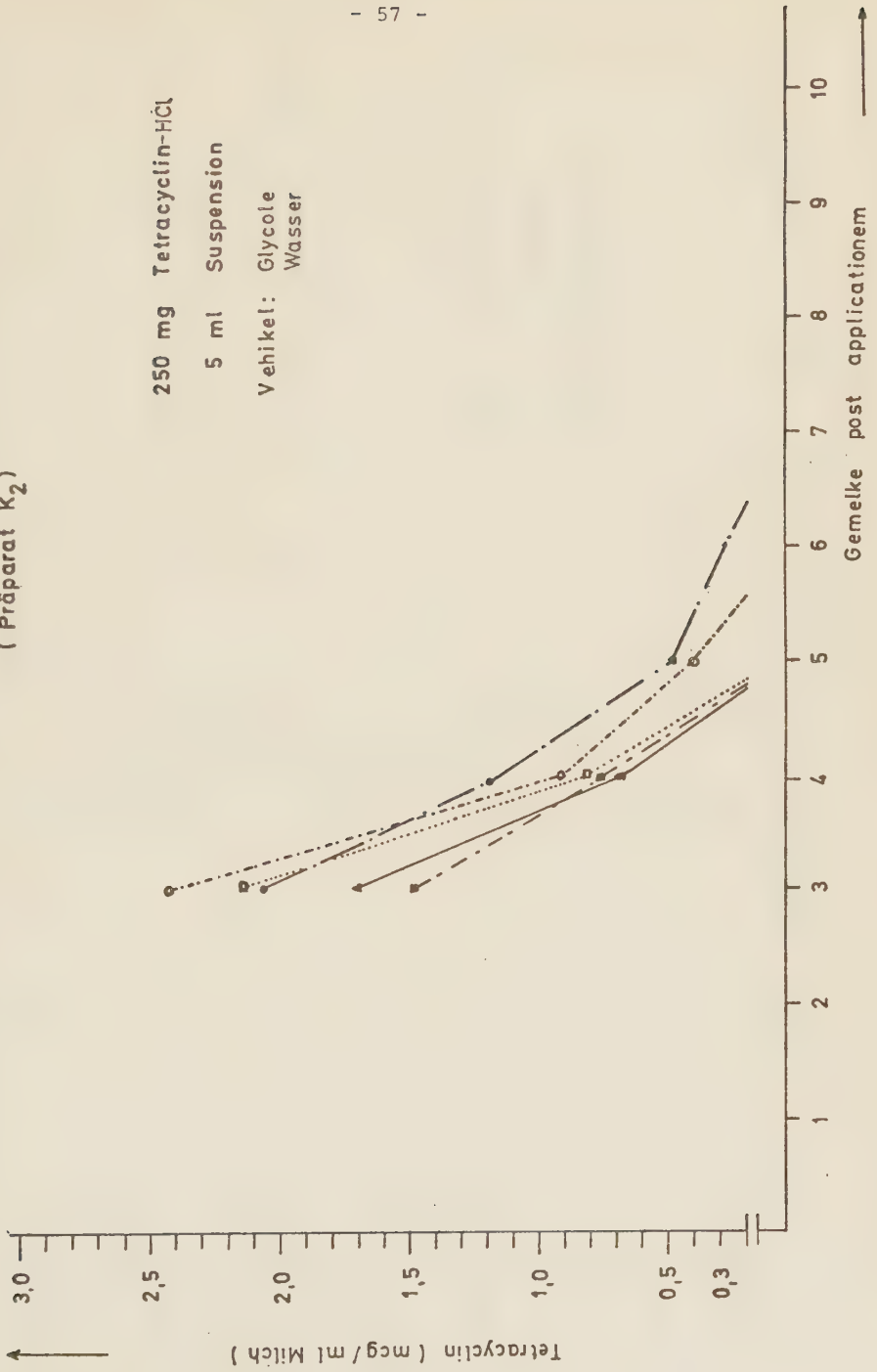


Abb. 15 : Tetracyclin - Milchspiegel

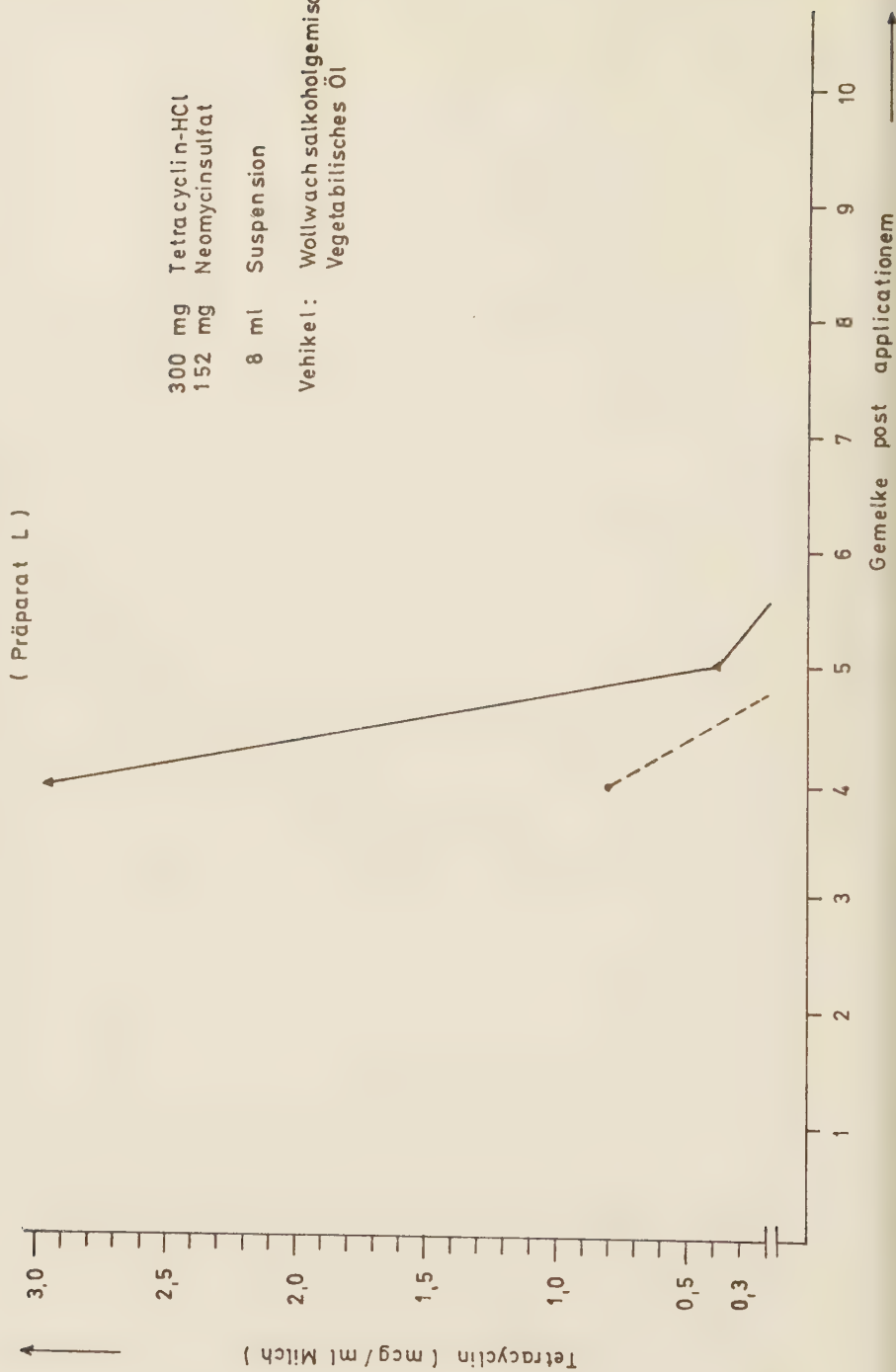


Abb. 16.: Tetracyclin - Milchspiegel

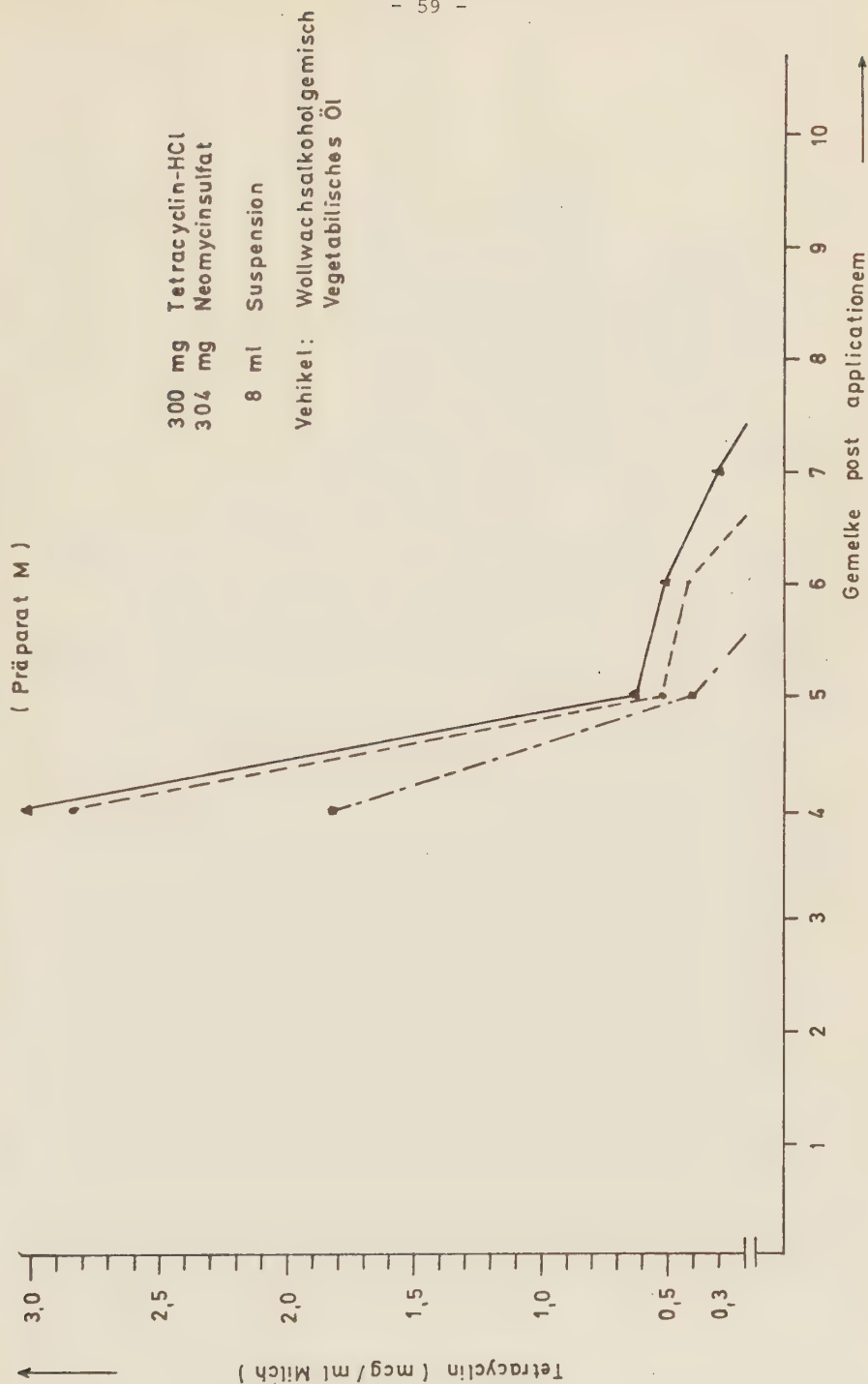
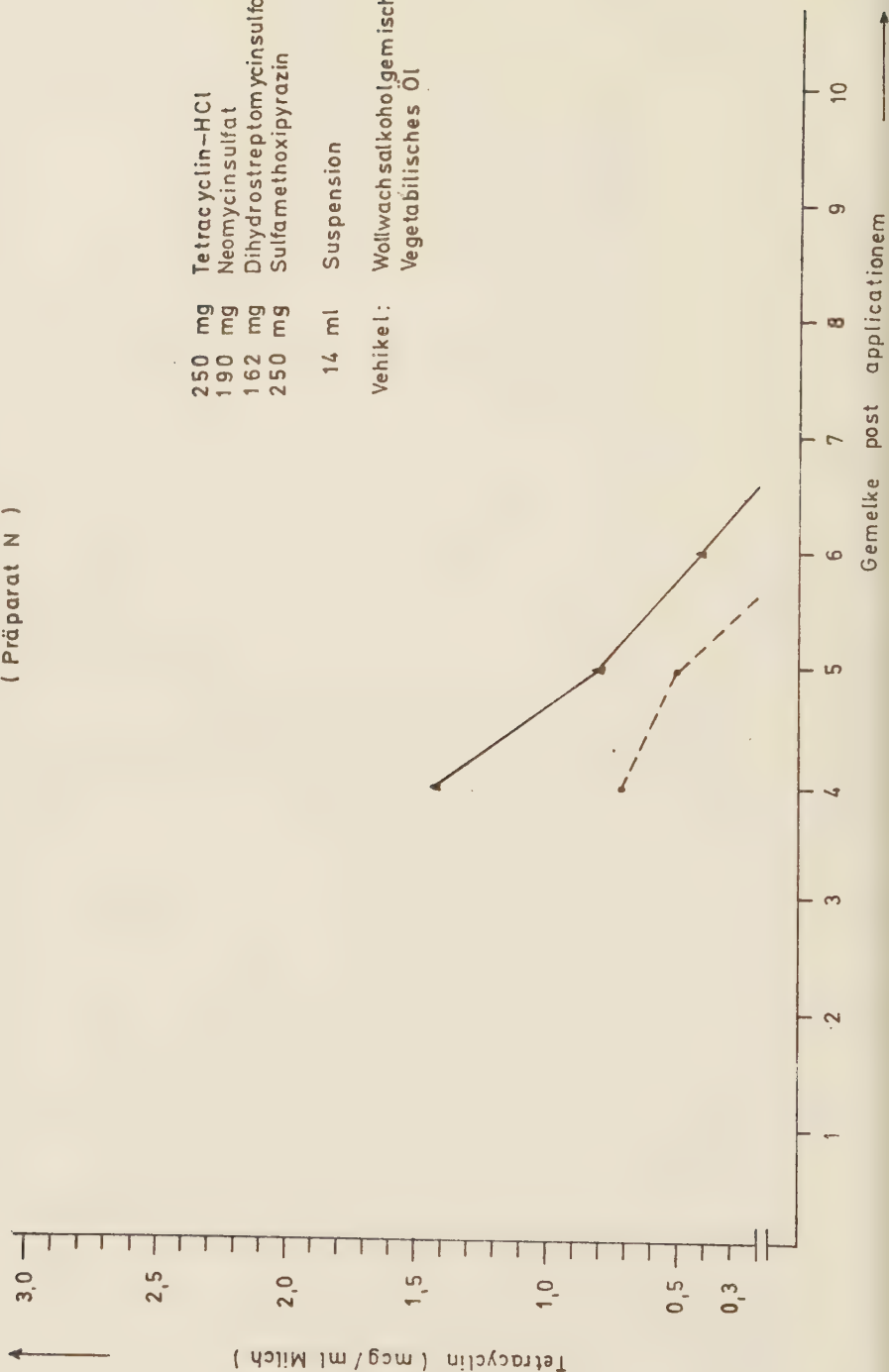


Abb. 17.: Tetracyclin - Milchspiegel

(Präparat N)



IV. DISKUSSION

Wie aus dem einschlägigen internationalen Schrifttum hervorgeht, werden die Ausscheidungszeiten intrazisternal verabreichter Antibiotika in der Milch u.a. von dem Grad der pathologisch-anatomischen Veränderungen des Euterparenchyms, der Milchleistung und dem Laktationsstadium beeinflusst. Entzündliche klinische Veränderungen des Euters, niedrige Milchleistung und spätes Laktationsstadium werden als hauptsächliche Faktoren genannt, die eine Verzögerung der Antibiotika-Ausscheidung bedingen können. Es war deshalb naheliegend zu prüfen, welche Schwankungen in den Ausscheidungszeiten vorkommen, wenn ein in diesen Kriterien gleiches Kollektiv von Versuchskühen, das zudem noch gleiche Haltungs- und Fütterungsbedingungen aufwies, verwendet wurde. Der Begriff "Ausscheidungszeit" ist im Zusammenhang mit Antibiotika-Rückständen in der Milch nicht verbindlich definiert. Als Ausscheidungszeit muß man in diesem Zusammenhang wohl die Zeitdauer von der Applikation des Wirkstoffs bis zu seiner Eliminierung aus der Milch ansehen. Man könnte somit unter der Voraussetzung eines normalen Melkrhythmus die Ausscheidungszeit als Anzahl der Melke post applicationem definieren, die Antibiotika enthalten. Auch die Anzahl der Melkzeiten ließe sich ebenso in eine solche Definition einbeziehen. Der Nachweis der entsprechenden Antibiotika in der Milch sollte mit den empfindlichsten der zur Verfügung stehenden Methoden durchgeführt werden. Als positiver Befund ist nur der Nachweis von solchen Wirkstoffkonzentrationen zu werten, die über der jeweiligen sicheren Erfassungsgrenze liegen bzw. diese erreicht haben. Die bei mikrobiologischen Antibiotika-Nachweismethoden gelegentlich vorkommenden unspezifischen Reaktionen können auf diese Weise besser eliminiert werden. Unter Berücksichtigung dieser Gesichtspunkte wurden im Rahmen der eigenen Untersuchungen die Ausscheidungszeiten bestimmt. Bei Penicillin G-Präparaten mit

einer Ausscheidungszeit von ≤ 7 Melkzeiten betrug die Variation im Extremfall 2, bei den übrigen Präparaten mit längeren Ausscheidungszeiten bereits 4 Melkzeiten. Aus den hier vorliegenden Ergebnissen der Untersuchungen an einem relativ gleichwertigen Material können keine Schlüsse über die Ursache der Abweichungen gezogen werden.

Wie wenig die Höhe der verabreichten Dosis die Ausscheidungszeit beeinflussen kann, zeigen die Ergebnisse mit den Präparaten A und E, die bei einer Dosis von 1,6 Mega IE bzw. 200.000 IE Prokain-Penicillin G pro Euterviertel und gleicher Vehikelmenge die gleichen Ausscheidungszeiten haben. In beiden Fällen handelte es sich um eine Suspension ohne Zusatz von Aluminiummonostearat. Die übrigen geprüften Prokain-Penicillin G-haltigen Präparate bedingten vergleichsweise lange Ausscheidungszeiten des Wirkstoffs und hatten ausnahmslos einen Zusatz von Aluminiummonostearat. Lange Ausscheidungszeiten von Prokain-Penicillin G beobachtete auch EDWARDS (1964), wenn als Vehikel Mineralöl mit Zusatz von Aluminiummonostearat verwendet wurde.

Die längste Ausscheidungszeit wurde bei einem Benethamin-Penicillin G-Präparat beobachtet, das ebenfalls einen Aluminiummonostearat-Zusatz enthielt (Präparat G). Benethamin-Penicillin G gilt aufgrund seiner schlechten Wasserlöslichkeit als Depot-Penicillin. Verschiedentlich werden schwerlösliche Penicillinsalze in einem öligen Träger mit Zusatz von Aluminiummonostearat als ausgesprochene Langzeitpräparate angesprochen, die man tunlichst nur in der Trockenzeit verabreichen sollte. Diese Aussage gilt für das Präparat G, nicht aber für das Präparat H, das kurze Ausscheidungszeiten, allerdings bei geringerer Dosis, aufweist. Die lange Ausscheidungszeit ist also offensichtlich nicht allein von diesen Kriterien abhängig, sondern es müssen auch der Typ der Trägersubstanz und die Hilfsstoffe berücksichtigt werden. Vom Hersteller werden diese Daten nicht angegeben, so daß man nicht die Bedingungen fixieren kann, unter denen es zu einer

langen Ausscheidungszeit kommen kann. Die aufgrund des Gesetzes zur Änderung des Arzneimittelgesetzes vom 5. Juni 1974 vorgeschriebene Angabe von Wartezeiten von seiten des Herstellers wird die bisherigen Unsicherheiten beseitigen. Bisher ist es nicht möglich, Langzeitpräparate aufgrund der vom Hersteller gemachten Angaben über Arzneiform, Träger und Dosis zu identifizieren. Es ist übrigens auch nicht berechtigt, bei intrazisternal verabreichten schwerlöslichen Penicillinsalzen (Benethamin- bzw. Benzathin-Penicillinen) von Langzeitantibiotika zu sprechen, da, wie das Beispiel des Präparates H zeigt, solche Antibiotika auch schnell ausgeschieden werden können.

Voraussetzung für die Prüfung der Antibiotika-Konzentrationen in den Gemelkfraktionen war, zu ermitteln, ob die entsprechenden Antibiotika in den in der Zusammensetzung sehr unterschiedlichen Medien gleichermaßen diffundieren. Da dies der Fall war, konnte davon ausgegangen werden, daß signifikante Unterschiede in den Hemmhofgrößen auch signifikanten Unterschieden in den Antibiotikakonzentrationen entsprachen. Die erstellten Befunde über den Antibiotikagehalt im Endgemelk stehen nicht in Übereinstimmung mit den in der Literatur fixierten Ergebnissen, wonach Vorgemelke höhere Antibiotikakonzentrationen aufwiesen als Endgemelke (PACKER, 1948; TRUSSELL und STEVENSON, 1949a und 1949b, SCHIPPER und PETERSEN, 1953). Für diese Differenzen könnten unterschiedliche Vehikel verantwortlich sein. Die in der Mehrzahl der Fälle bei eigenen Untersuchungen festgestellten signifikant höheren Antibiotikagehalte im Endgemelk sind auch für die Praxis relevant, da unter Zugrundelegung der Endgemelke die Ausscheidungszeiten bei jedem Penicillin G-Präparat im Vergleich zum entsprechenden Gesamtgemelk um 1 bis 3 Melkzeiten höher liegen würden. Im Falle der Beanstandung von Bestandsmilch wegen Hemmstoffen wäre es aufgrund dieses Befundes auch zweckmäßig, Endgemelkproben zu ziehen, wenn es gilt, die im Bestand behandelten Tiere ausfindig zu machen. Die Heranziehung des Endgemelkes als Grundlage der Bestimmung von Ausscheidungszeiten ist allerdings nicht zu empfehlen, da in keinem Falle

Gemelkfraktionen dem menschlichen Verzehr zugeführt werden, sondern im Extremfalle das Gesamtgemelk einer einzelnen Kuh, meist jedoch die Bestandsmilch bzw. die aus vielen Bestandsmilchen bestehende Anlieferungsmilch der Molkerei. Die Ergebnisse der Bestimmungen des Wirkstoffgehalts von Vorgemelken im Vergleich zum Gesamtgemelk zeigen eine Übereinstimmung mit den einschlägigen Untersuchungen anderer Autoren (BLOBEL und BURCH, 1960; JACOBS et al., 1971).

Verschiedene Untersucher berichteten, daß bei intrazisternaler Verabreichung von Penicillin G-Präparaten in ein einzelnes Euterviertel einer Kuh die Milch der unbehandelten Euterviertel keine oder nur geringe Penicillin G-Konzentrationen aufweist (BLOBEL, 1960, EDWARDS, 1964 u.a.). Die Persistenz der Milchspiegel in den unbehandelten Eutervierteln wurde mit 36 Stunden angegeben (BLOBEL, 1960; SIDDIQUE et al., 1965).

Demgegenüber konnten bei eigenen Untersuchungen weit höhere Penicillin-Milchspiegel und längere Ausscheidungszeiten beobachtet werden. Die Unterschiede sind offensichtlich darauf zurückzuführen, daß bei den eigenen Untersuchungen die heute üblichen weit höheren Dosierungen (2-3 Mega IE Penicillin G pro Euterviertel) angewendet wurden. Außerdem enthielten die angewendeten Präparate Vehikel, die den Wirkstoff schnell freisetzen. BLOBEL (1960) und EDWARDS (1964) wendeten noch Penicillindosen von 100.000 bis 300.000 IE/Viertel an. EDWARDS vertritt aufgrund seiner Ergebnisse die Ansicht, daß es nicht notwendig sei, die Milch der unbehandelten Viertel zu verwerfen. Aufgrund der eigenen Befunde kann diese Ansicht nicht unterstützt werden, da durch so hohe Penicillingehalte wie sie im ersten Gemelk der unbehandelten Viertel nachgewiesen wurden ($\leq 4,2$ IE Penicillin G) selbst die Milch eines größeren Bestandes so kontaminiert würde, daß sie aus hygienischen und milchtechnologischen Motiven gesetzlich beanstandet werden müßte. Unterstellt man, daß bei derartiger Behandlung von zwei Kühen etwa 20 Liter Milch aus den unbehandelten Vierteln der übrigen hemmstofffreien

Milch zugegeben werden, so würde selbst der Penicilliningehalt der Milch bei einer Verdünnung mit 2.000 Litern hemmstofffreier Milch noch so hoch sein, daß massive milchtechnologische Störungen durch Hemmung der Milchsäurebildner ausgelöst würden. Die Persistenz der Milchspiegel bei den eigenen Untersuchungen übertraf ebenfalls mit 90 Stunden im Extremfall die von anderen Autoren angegebene Zeitspanne von 36 Stunden. Auf keinen Fall können hier unterschiedliche Empfindlichkeiten der angewendeten Nachweismethoden als Grund für diese Differenzen angeführt werden, da beispielsweise auch BLOBEL (1960) eine hochempfindliche Nachweis-Methode mit einer Erfassungsgrenze des Penicillins von 0,0045 IE/ml Milch gewählt hatte. Es müssen vielmehr die etwa um das 10fache erhöhte Dosis und eventuell auch die verwendeten Vehikel und Hilfsstoffe als Grund für die Unterschiede angesehen werden.

V. ZUSAMMENFASSUNG

1. Nach intrazisternaler Verabreichung von 9 Penicillin G-haltigen und von 5 Tetracyclin-haltigen handelsüblichen Mastitispräparaten an ein in verschiedenen Kriterien gleiches Kollektiv von Versuchstieren (6 eutergesunde Kühe mit gleicher Milchleistung, im gleichen Laktationsstadium und bei gleicher Haltung und Fütterung) wurden die Ausscheidungszeiten der entsprechenden Antibiotika in der Milch unter Zugrundelegung von Gesamt-, Viertel-, Anfangs- und Endgemelk und unter Berücksichtigung verschiedener Vehikel und Dosierungen bestimmt.
2. Die stärkste Variation in den Ausscheidungszeiten der "Penicillin G-Kurzzeitpräparate" (≤ 7 Melkzeiten) betrug 2 Melkzeiten, in den Ausscheidungszeiten der anderen Penicillin G-Präparate (> 7 Melkzeiten) 4 Melkzeiten. Die Prokain-Penicillin G-haltigen Präparate mit der vergleichsweise längsten Ausscheidungszeit enthielten als Träger Vaseline, Paraffinöl bzw. Wollwachs mit Zusatz von Aluminiummonostearat.
3. 58,5% der Anfangs- und 65,4 % der Endgemelkproben wiesen im Vergleich zum Gesamtgemelk signifikant höhere Penicillin G-Konzentrationen auf. Die entsprechenden Prozentsätze für die Tetracyclin-Präparate betrugen 84,2 und 85,1. Die Ausscheidungszeiten der einzelnen Penicillin-Präparate unter Zugrundelegung der Endgemelke lagen stets um 1 bis 3 Melkzeiten höher im Vergleich zum Gesamtgemelk. 43,1% bzw. 41,3% der Viertelgemelke zeigten signifikant höhere bzw. signifikant niedrigere Penicillin G-Konzentrationen und 43,6 bzw. 26,7 % der Viertelgemelke zeigten signifikant höhere bzw. niedrigere Tetracyclin-Konzentrationen im Vergleich zum Gesamtgemelk.

4. Nach intrazisternaler Verabreichung von 3 Mega IE Penicillin G-Natrium bzw. 2 Mega IE Prokain-Penicillin G bzw. 1.000 mg Oxacillin in jeweils ein einzelnes Euterviertel konnten Maximal-Milchspiegel im 1. Gemelk der unbehandelten Euterviertel von 0,4 IE Penicillin G, 4,2 IE Penicillin G bzw. 0,4 mcg Oxacillin pro ml Milch ermittelt werden. Die vergleichsweise höchsten Antibiotika-Konzentrationen wurden dabei im Viertelgemelk ermittelt. Die maximalen Ausscheidungszeiten unter Zugrundelegung der Viertelgemelke der unbehandelten Euterviertel betrugen 4,5 bzw. 3 Melkzeiten.

V. SUMMARY

1. After intramammary administration of nine penicillin and five tetracyclin commercially available mastitis products to a homogeneous group of cows (six normal lactating cows, in the same lactation period, with the same milk yield and the same conditions in the cowshed) excretion times of the antibiotics have been determined in consideration of the different vehicles and doses and the concentrations in total-, quarter-, fore- and last-milk samples.
2. Highest variation in the excretion times of the "penicillin G quick release agents" (≤ 7 milking times) amounted to two milking times and in the excretion of the remaining penicillin G preparations (> 7 milking times) to four milking times. The comparably longest excretion times were found when vaseline, paraffinoil or wax with aluminiummonostearat respectively were used as carrier-substances.
3. 58,5 % of the fore-milk samples and 65,4 % of the last-milk samples proved to have significantly higher penicillin G concentrations than the corresponding pooled quarter-milk-samples. The corresponding percentages for tetracycline preparations amounted to 84,2 % and 85,1 %.

Penicillin G was excreted in last-milk samples one to three milkings later than it was in total-milk samples.

43,1 % of the quarter-milk samples showed significantly higher and 41,3 % showed significantly lower penicillin G levels than it did the corresponding total-milk samples. Corresponding percentages of tetracyclin in quarter-milk samples amounted to 43,6 and 26,7 %.

4. After infusion of several doses of penicillin (3.000.000 IU penicillin-G-natrium, 2.000.000 IU procain-penicillin G and 1.000 mg oxacillin) in only one quarter of the mammary gland subsequent maxima of antibiotic levels were found in the milk of untreated quarters: 0,4 IU penicillin G, 4.2 IU penicillin G and 0,4 mcg oxacillin.

In this case the quarter-milk samples contained the comparably highest antibiotic concentrations. With regard to the quarter-milk excretion times for antibiotics in the milk of untreated quarters amounted to four, five and three milking times respectively.

VI. LITERATURVERZEICHNIS

ALBRIGHT, J.L., TUCKEY, S.L. und G.T. WOODS (1961)
Antibiotics in milk - a review.
J. dairy Sci. 44, 779

BLOBEL, H. (1960)
Concentrations of Penicillin in milk secretions
and blood serums of cows following intramammary
infusion of one ore more quarters.
J. Amer. Vet. Med. Ass. 137, 110

BLOBEL, H. und C.W. BURCH (1960)
Oxytetracycline concentrations in blood serums
and milk secretions of cows following intravenous
or intramammary treatment.
J. Amer. Vet. Med. Ass. 137, 701

COSGROVE, C.J. und W.M. ETGEN (1960)
Antibiotic residues in milk.
J. dairy Sci. 43, 1886

DIERNHOFER, K. (1955)
Epithel- und andere Gewebsschranken in der
Chemotherapie
Wien. tierärztl. Mschr. 42, 775

EDWARDS, S.J. (1964)
The diffusion and retention of Penicillin after
injection into the bovine udder.
Vet. Rec. 76, 545

GEDEK, W. (1973)
Ausscheidung von Antibiotika mit der Milch
Tierärztl. Prax. 1, 245

GROSSMANN, A. (1964)
Über die Ausscheidung von Penicillin in Milch
nach intramammärer Applikation beim Rind unter
besonderer Berücksichtigung von Dosis, Vehikel
und Melkfrequenz.
Vet. Med. Diss. München

JACOBS, J. und J. HANSELAAR (1966)

Antibiotikakonzentrationen in Milch von Kühen
nach intramammärer Behandlung (holländisch).

Tijdschr. Diergeneesk. 91, 896

JACOBS, J. und A. PENNING (1969a)

Einfluß der Probenentnahme auf die Ergebnisse
der Antibiotikaausscheidung durchs Euter (holländisch).

Tijdschr. Diergeneesk. 94, 1109

JACOBS, J. und A. PENNING (1969b)

Antibiotikarückstände in Milch von mit kurzzeitig
wirkenden Mastitispräparaten behandelten Kühen
(holländisch).

Tijdschr. Diergeneesk. 94, 1305

JACOBS, J., KLASSENS, M. und A. PENNING (1971)

Einfluß der Probenentnahme auf die Ergebnisse der
Antibiotikaausscheidung durchs Euter (holländisch). II.

Tijdschr. Diergeneesk. 96, 715

JACKSON, W.F. und C.S. BRYAN (1950)

Penicillin milk levels in cows following intra-
mammary administration.

Vet. Med. 45, 395

KÄSTLI, P. und F. BRUNSCHWILER (1961)

Wie lange und in welchen Mengen werden Antibiotika bei
der intramammären Behandlung der Kuh mit der Milch aus-
geschieden?

Path. Microbiol. 24, 774

KANEGIS, L.A., TONELLI, G. und H. FALK (1953)

Aureomycin milk and serum concentration in dairy cows.

J. Dairy Sci. 36, 152

KLEIN, P. (1957)

Bakteriologische Grundlagen der chemotherapeutischen
Laboratoriumspraxis.

Springer Verlag Berlin - Göttingen - Heidelberg

KRAMER, J., CARTER, G.G., ARRET, B., WILNER, J.,
WRIGHT, W.W. und A. KIRSCHBAUM (1968)
Antibiotic residues in milk, dairy products and
animal tissues: methods, reports and protocols.
National Center for Antibiotics and Insulin Analysis,
Food and Drug Administration, Washington, DC.

MERCER, H.D., GELETA, J.N. und G.G. CARTER (1974)
Absorption and excretion of Penicillin G from the
mastitic bovine udder.
J.Amer. Vet. Med. Ass. 164, 613

MERCER, H.D., GELETA, J.N., PORTEOUS, L.A. und
R.J. LONDON (1974)
Excretion of Penicillin G and Dihydrostreptomycin
from quarters of cows with experimentally induced
staphylococcal mastitis.
Amer. J. Vet. Res. 35, 1191

OVERBY, A.J. (1954)
Antibiotics in milk.
Dairy Sci. Abstr. 16, 2

RANDALL, W.A. (1960)
Observations on the infusion of Penicillin in
the mammary gland of the bovine.
J. dairy Sci. 43, 1506

REUSSE, M. (1961)
Über die Ausscheidung von Arzneimitteln mit der
Milch und die Dauer der Ausscheidung
Dtsch. tierärztl. Wschr. 68, 183

ROLLINS, L.D., MERCER, H.D., CARTER, G.G. und
J. KRAMER (1970)
Absorption, distribution and excretion of penicillin
and dihydrostreptomycin in dairy cows following intra-
mammary infusion.
J. Dairy Sci. 53, 1407

SCHIPPER, I.A. (1955)

Comparison of vehicles in intramammary therapy
ov bovine mastitis.

Vet. Med. 50, 111

SCHIPPER, I.A. und W.E. PETERSEN (1952)

Milk, blood and urine concentrations of Aureomycin
after intramammary infusions and intravenous ad-
ministration

TERPLAN, G., ZAADHOFF K.-J. und H. EMDE (1971)

Zur Ausscheidung von Antibiotika nach intrazister-
naler Verabreichung unter besonderer Berücksichti-
gung des Erythromycins.

Dt. Milchwirtschaft 22, Nr. 38

TERPLAN, G. und K.-J. ZAADHOFF (1967)

Zum Vorkommen und Nachweis von Hemmstoffen in der
Milch - eine kurze Übersicht.

Milchwissenschaft 22, 761

TRUSSEL, P.C. und W.G. STEVENSON (1949a)

The Penicillin ~~concentration~~ in milk following
insertion of Penicillin bougies into the bovine
udder.

Canad. J. comp. Med. 13, 127

TRUSSEL, P.C. und W.G. STEVENSON (1949b)

Streptomycin concentrations in milk following
insertion of Streptomycin bougies into the bovine
udder.

Canad. J. comp. Med. 13, 209

ULLBERG, S., HANSSON, E. und H. FUNKE (1958)

Distribution of aqueous penicillin and penicillin
in oil in normal goat udders following intramammary
injection - an autoradiograph study.

Amer. J. Vet. Research 19, 135

WALTER, A.M. und L. HEILMEYER (1965)

Antibiotikafibel - Antibiotika und Chemotherapeutika
2. Aufl. Verlag Georg Thieme, Stuttgart

WILSON, C.D. und J. DAVIDSON (1961)

The Control of Staphylococcal Mastitis.

Vet. Rec. 3, 321

WODŚAK, W. (1959)

Bedeutung und Nachweis der Antibiotika in der Milch.

Die Nahrung 3, 729

WRIGHT, W.W. und L.C. HAROLD (1960)

Antibiotic residues in milk after parenteral and oral
administration in cows.

J. Amer. Vet. Med. Ass. 137, 128

Herrn Professor Dr. G. T e r p l a n danke ich für die
Bereitstellung der Arbeitsmöglichkeiten, Herrn Priv. Doz.
Dr. W. G e d e k für die Überlassung des Themas.

LEBENS LAUF

Am 7. Okt. 1944 wurde ich in Höxter/Weser geboren. Die Volksschule besuchte ich in Leverkusen, und von 1955 - 1965 war ich Schüler des Landrat-Lucas-Gymnasiums in Opladen. Nach zweijähriger Dienstzeit bei der Bundeswehr begann ich im Sommersemester 1967 mit dem Studium der Tiermedizin an der Tierärztlichen Hochschule Hannover, wo ich im Juni 1972 die Tierärztliche Prüfung ablegte. Die Bestallung als Tierarzt wurde mir im September 1974 erteilt.

